

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1925-1926

N°

RECHERCHES
sur le Dosage des Bases Xanthiques
DANS L'URINE

THÈSE
pour l'obtention du diplôme de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le *Mai 1926*

PAR

Paul GENEVOIS
Pharmacien

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*
GUERBET, *Professeur.*
HÉRISSEY, *Agrégé.*

MARCEL VIGNÉ, ÉDITEUR
13, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
PARIS

1926

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1925-1926

N°

RECHERCHES
sur le Dosage des Bases Xanthiques
DANS L'URINE

THÈSE
pour l'obtention du diplôme de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le **Mai 1926**

PAR

M. Paul GENEVOIS
Pharmacien

JURY { MM. GRIMBERT, *Président.*
GUERBET, *Professeur.*
HÉRISSEY, *Agrégé.*

MARCEL VIGNÉ, ÉDITEUR
13, RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
PARIS

1926

Personnel de la Faculté de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *, **, I.
 PERROT, Assesseur, O. *, **, I.
 G. DURSANT, Secrétaire, *, **, I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut, C. *, **, I.
 H. GAUTIER, O. *, **, I.
 RADAIS, O. *, **, I.
 BEHAL, Membre de l'Institut, C. *, **, I.
 PERROT, O. *, **, I.

Botanique Générale.
 Chimie minérale.
 Cryptogamie et Microbiologie.
 Chimie organique.
 Histoire Naturelle des Médicaments.

COUTIERE, *, **, I.
 BERTHELOT, Membre de l'Institut, **, I.
 GRIMBERT, *, **, I.
 LEBEAU, O. *, **, I.
 DELEPINE, O. *, **, I.
 GUERBET, *, **, I.
 BOUGAULT, *, **, I.
 GORIS, *, **, I.

Zoologie.
 Physique.
 Chimie biologique.
 Pharmacie chimique.
 Hydrologie et hygiène.
 Toxicologie.
 Chimie analytique.
 Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. GUIGNARD, C. *, **, I.
 et H. GAUTIER, O. *, **, I.

Professeurs honoraires : MM. MOUREU, G. O. *, **, I.
 et A. VILLIERS, *, **, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY, *, **, I.
 MARC HONNORAT, *, **, I.
 LUTZ, *, **, I.
 GUÉRIN, *, **, I.

Minéralogie.
 Législation et Déontologie pharmaceutiques.
 Cryptogamie.
 Botanique.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, *, **, I.
 TASSILLY, *, **, I.
 DAMIENS, **, I.
 GUÉRIN, *, **, I.

MM. LUTZ, *, **, I.
 LAUNOY, *, **, I.
 HÉRISSEY, *, **, I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, **, I.
 COUSIN, *, **, I.
 SOUÈGES, **, I.
 LEROUX, **, I.
 DEVAL, **, I.
 FRANÇOIS, *, **, I.

Chimie générale.
 Chimie analytique.
 Micrographie.
 Physique.
 Microbiologie.
 Travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, **, I.
 Bibliothécaire honoraire : M. P. DORVEAUX, **, I.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. GRIMBERT

Membre de l'Académie de Médecine

Chevalier de la Légion d'Honneur

Hommage de respectueux dévouement.

A MONSIEUR P. FLEURY

Docteur ès-sciences

Hommage de profonde reconnaissance

MEIS ET AMICIS

INTRODUCTION

Les méthodes de dosage des bases xanthiques dans l'urine

C'est Salkowski qui semble le premier avoir montré que l'acide urique de l'urine était précipité par l'azotate d'argent en milieu ammoniacal, en présence de chlorure de magnésium, à l'état d'urate double d'argent et de magnésie, et avoir utilisé cette propriété pour le dosage de ce corps. Il décomposait ce précipité par l'hydrogène sulfuré et après filtration évaporait la solution à faible volume. Il recueillait ensuite l'acide urique cristallisé qu'il pesait. Comme la combinaison argentique de l'acide urique était définie, Haycraft (3 p. 39) eut l'idée de doser celui-ci d'après l'argent qu'il fixait. Hermann plus tard remarqua que les résultats donnés par cette méthode étaient toujours un peu supérieurs (3 p. 59) à ceux donnés par la méthode de Salkowski et il attribua à la xanthine (3 p. 59) l'excès d'argent trouvé par la méthode d'Haycraft. Deroide (3) comparant la méthode de Salkowski à celle d'Haycraft-Hermann, confirma la remarque d'Hermann et montra que les résultats obtenus par cette dernière méthode dépassaient toujours d'environ 20 % le poids de l'acide urique trouvé par la méthode de Salkowski. Deroide, vu l'importance assez considérable de cette différence, pensa que d'autres substances appartenant au même groupe que la xanthine, précipitées également par l'azotate d'argent ammoniacal, con-

couraient à fausser les résultats dans la méthode d'Haycraft-Hermann. On fut ainsi amené à distinguer dans le précipité produit par l'azotate d'argent ammoniacal, à côté de l'acide urique, un mélange certainement complexe que l'on peut appeler « corps xanthiques » mélange que l'on a proposé de doser de deux façons différentes :

- 1° Par différence;
- 2° Directement.

A) *Méthode par différence :*

Denigès, s'appuyant sur ce fait qu'il y avait autre chose que de l'acide urique précipité par l'argent et que cet excès semblait être du à d'autres substances du groupe de la purine, proposa alors de doser le « bloc xantho-urique » non pas par l'argent précipité comme le faisait Haycraft, mais par l'argent en excès et non combiné. La quantité des bases puriques s'obtient alors en retranchant du bloc xantho-urique ainsi déterminé, le poids de l'acide urique donné par un procédé spécifique de l'acide urique tel que celui de Ronchèse, par exemple. Donc, par cette méthode, les bases xanthiques sont appréciées d'après l'argent qu'elles sont capables de fixer.

B) *Méthodes directes :*

Ces méthodes utilisent, soit l'azotate d'argent ammoniacal dans la méthode de Salkowski, soit le sulfate de cuivre en milieu bisulfite, qui, lui aussi, a la propriété de précipiter la totalité du bloc xantho-urique. C'est la méthode de Krüger. Les purines sont libérées ensuite de leurs combinaisons par H^2S et les deux procédés mettent à profit l'insolubilité de l'acide urique dans l'eau pour séparer ce dernier

des bases xanthiques. On évalue alors les bases en dosant soit directement l'azote des eaux mères et des eaux de lavage de l'acide urique, soit en faisant un second précipité cuivrique qu'on traite par la méthode de Kjeldahl. Ces méthodes longues et pénibles exigent une grande pratique pour donner de bons résultats. De plus, la méthode cuivrique doit donner, tout au moins dans l'urine, des résultats toujours supérieurs à la méthode argentique. Nous en verrons la raison un peu plus loin. Ce deuxième groupe apprécie donc les bases xanthiques non plus d'après le métal fixé, mais d'après leur teneur en azote.

Nous nous sommes proposé un double but dans ce travail :

- 1° Chercher une méthode de dosage directe plus rapide et plus simple;
- 2° Montrer dans quelle mesure il est justifié d'apprécier ces bases d'après l'argent fixé, élément surajouté, au lieu de les évaluer d'après leur teneur en azote, élément constitutif de la molécule (1).

Admettre la légitimité de cette substitution, c'est en effet supposer *implicitement* que, dans tous les cas, les bases xan-

(1) En effet, les bases qui ont été isolées de l'urine humaine sont très nombreuses, ainsi que l'ont montré Krüger et Salomon, qui ont retiré de 10.000 litres d'urine (cités par Yvon et Michel) : (19 p. 137)

Xanthine	10,11
Hétéroxanthine	23,34
1-Méthylxanthine	31,28
Paraxanthine	15,31
Hypoxanthine	8,50
Adémine	3,54
Epiguanine	3,40

On peut donc se demander si, les proportions de ces différentes bases entre elles venant à varier, les variations de l'argent fixé restent proportionnelles aux variations de l'azote de ces bases.

thiques de l'urine appréciées d'après leur azote fixent la même proportion d'argent. Or, seule l'expérience peut résoudre ce problème.

L'étude des variations du rapport entre l'azote des bases xanthiques et l'argent que ces bases sont susceptibles de fixer, ce que nous appellerons pour simplifier le rapport $\frac{Ag}{Az}$ s'impose donc pour permettre de choisir entre les deux méthodes. Cette étude nous a paru devoir présenter un autre intérêt, car si ce rapport se révélait variable, il nous permettrait de saisir la variation *qualitative* de la composition du mélange des bases xanthiques en déterminant ce qu'on peut appeler l'« indice d'argent » de ces bases (1).

Voici comment nous avons tenté de résoudre le problème :

Après avoir séparé directement de l'urine l'acide urique, nous avons projeté de précipiter les bases par l'argent et de déterminer dans ce précipité à la fois l'azote et l'argent, ce qui nous permettrait d'examiner les variations du rapport de ces deux éléments. Il nous fallait donc précipiter cet acide urique « spécifiquement » à l'exclusion des bases xanthiques. De plus, il était nécessaire que les réactifs employés pour cette séparation ne s'opposent pas ensuite à la précipitation de ces bases par l'argent. Dans ce but nous avons examiné successivement l'action des sels de zinc, d'ammonium et de cuivre qui, pour des raisons diverses, ne nous ont pas donné satisfaction. Mais ceci du moins nous a permis une étude cri-

(1) Cette question du dosage exact des bases xanthiques dans l'urine présente un regain d'intérêt depuis les recherches de Camus et Gournay [2], de Ch. Kayser et Eliane Le Ereton [7] qui ont attiré l'attention sur l'intervention probable de ces bases dans le diabète insipide. L'utilisation de notre méthode dans ce cas permettrait sans doute d'apporter d'intéressantes précisions sur ce problème.

tique de divers procédés de dosage de l'acide urique utilisant ces sels. Nous sommes revenus finalement à la méthode de Salkowski que nous avons simplifiée, et c'est de ce côté que nous avons trouvé la solution du problème.

Notre travail comprendra donc deux parties :

Première partie : Etude critique de quelques procédés de séparation de l'acide urique.

Deuxième partie : Dosage des bases xanthiques, détermination et étude du rapport $\frac{Ag}{Az}$ dans le précipité argentique de ces bases.

Avant de commencer l'exposé de notre travail, nous tenons à remercier M. le Professeur Grimbert qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire.

Nous adressons aussi nos remerciements à MM. les Professeurs Guerbet et Hérissé, qui ont bien voulu accepter d'examiner ce travail.

Nous voulons enfin assurer M. P. Fleury de notre profonde gratitude pour la bienveillance qu'il nous a toujours témoignée et pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

Première Partie

Etude critique de quelques procédés de séparation de l'acide urique

PREMIÈRE PARTIE

Etude critique de quelques procédés de séparation de l'acide urique

Dans cette première partie, nous avons étudié une série de procédés qui sont basés sur la séparation de l'acide urique sous forme d'un sel spécifique : procédés aux sels de zinc, d'ammoniaque et de cuivre. Cette étude a toujours été faite à deux points de vue : la séparation de l'acide urique est-elle totale ? les bases xanthiques ne sont-elles pas précipitées ?

L'étude de la séparation de l'acide urique à l'état d'urate de zinc par le procédé Bellocq-Sauzéat nous amène à étudier un procédé très voisin et qui, cependant prétend réaliser la séparation d'une façon inverse, en précipitant d'abord les bases xanthiques. C'est le procédé de Thiéry.

Cette partie comprendra donc quatre chapitres :

- I. — Etude critique du procédé de Bellocq-Sauzéat.
 - II. — Etude critique du procédé de Thiéry.
 - III. — Etude des procédés utilisant l'ammoniaque et ses sels.
 - IV. — Revue des procédés utilisant les sels de cuivre.
-

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE CRITIQUE DU PROCÉDÉ DE BELLOCQ-SAUZÉAT

Sauzéat prétend précipiter intégralement l'acide urique par le sulfate de zinc en milieu rendu légèrement alcalin par la soude, sans cependant toucher aux bases xanthiques qui, d'après lui, restent en solution (15 p. 29). Cependant, avant de vérifier la non-précipitation de ces bases dans le procédé de Bellocq-Sauzéat, nous avons voulu nous assurer que la précipitation de l'acide urique était bien totale dans les conditions indiquées par l'auteur.

§ I. — LA PRÉCIPITATION DE L'ACIDE URIQUE A L'ÉTAT D'URATE DE ZINC

Mode opératoire, d'après Sauzéat [15 p. 97]. — On dissout un gramme de sulfate de zinc dans 100 c^{m3}/ d'urine, puis on y ajoute trois gouttes par trois gouttes de la lessive de soude pure à 36° B jusqu'à *faible réaction alcaline au tournesol*. On opère à froid ou vers 60°-70° pour que le précipité formé soit moins gélatineux et filtre moins difficilement. Après filtration, on fait passer le précipité dans une capsule de porcelaine et on le dissout dans 5 c^{m3}/ d'acide chlorhydrique dilué au quart. On évapore au B. M. à 10 c^{m3}/-environ et on laisse

cristalliser l'acide urique qu'on recueillera sur un filtre taré et qu'on pèsera. Sauzéat indique les corrections à faire pour obtenir le poids exact d'acide urique par litre. L'auteur préfère d'ailleurs doser l'acide urique en solution sulfurique par le permanganate de potasse.

Nous avons tenu d'abord à vérifier sur une solution d'acide urique pur si la précipitation par ce procédé était totale. Pour rechercher l'acide urique éventuel dans le filtrat, nous avons employé le chlorhydrate d'ammoniaque et l'ammoniaque dans les proportions indiquées par Ronchèse, nous étant assuré au préalable que, ni le sulfate de zinc, ni la soude ajoutés ne troublaient la précipitation de l'acide urique par ce mélange. Cette précipitation reconnue complète, nous avons appliqué le procédé à l'urine en comparant les résultats obtenus à ceux donnés par le procédé de Ronchèse.

Essai comparatif sur une même urine des procédés de Bellocq-Sauzéat et de Ronchèse

1° *Procédé de Ronchèse* [11 p. 66] :

On additionne 100 c^m³ d'urine de 15 c^m³ d'ammoniaque et de 15 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque. Au bout d'une demi heure au moins de contact le précipité d'urate d'ammoniaque formé, lavé avec une solution contenant 15 grammes d'ammoniaque et 15 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque pour un litre d'eau, est dissous dans quelques gouttes d'acide acétique dilué. On alcalinise par un mélange de bicarbonate de potasse et borate de soude. On dose par iodométrie. Ronchèse indique une correction de 0,010 à ajouter au résultat par litre pour com-

penser la perte due à la solubilité de l'urate d'ammoniaque. Dans le dosage de l'urine examinée, il y a eu absorption de $7,6 \text{ c}^{\text{m}^3}$ d'iode décinormal, ce qui donne $0 \text{ gr. } 638 + 0,010 = 0 \text{ gr. } 648$ d'acide urique par litre.

2° *Procédé de Bellocq-Sauzéat :*

Après avoir suivi strictement la technique indiquée par l'auteur (voir plus haut) nous avons recueilli et pesé le précipité d'acide urique. Nous avons trouvé $0 \text{ gr. } 316$ par la pesée, c'est-à-dire en appliquant les corrections de Sauzéat [15 p. 87 et 97] $0 \text{ gr. } 351$ par litre au lieu de $0 \text{ gr. } 648$ par Ronchèse. L'acide urique pesé ayant mauvais aspect, nous avons voulu nous rendre compte de sa pureté. Pour cela, après l'avoir dissous dans une eau rendue légèrement alcaline par de la soude, et avoir acidifié cette solution par quelques gouttes d'acide acétique, nous avons ajouté du bicarbonate de potasse et du borate de soude selon les indications de Ronchèse et, nous avons titré par l'iode décinormal. Il a fallu verser $3,5 \text{ c}^{\text{m}^3}$ de la solution d'iode, ce qui correspond à $0 \text{ gr. } 294$ d'acide urique par litre. Cela nous a permis de constater que l'acide urique pesé n'était pas tout à fait pur, soit un titre de 93 %.

Devant une différence aussi considérable des résultats trouvés par le procédé de Ronchèse et par celui de Sauzéat, nous avons pensé à une précipitation incomplète de l'acide urique dans ce dernier procédé.

Pour nous en assurer, nous avons amené le filtrat provenant de la séparation de l'urate de zinc à $200 \text{ c}^{\text{m}^3}$ avec de l'eau distillée et nous avons ajouté 30 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque et $30 \text{ c}^{\text{m}^3}$ d'ammoniaque. Après un contact d'une demi heure au moins, nous avons recueilli et dosé

par l'iode le précipité d'urate d'ammoniaque obtenu. Il a fallu verser 4,2 c^m/ de la solution d'iode décinormal, ce qui correspond à 0 gr. 352 par litre. Nous remarquons alors que la somme :

Acide urique pesé, dosé par l'iode	0,294
Acide urique non précipité	0,352

est bien égale au résultat trouvé par le procédé de

Ronchèse.	<u>0,646</u>
-----------	--------------

Puisque, dans l'expérience précédente, tout l'acide urique de l'urine n'avait été précipité quoique les conditions d'alcalinité aient été celles indiquées par Sauzéat, il convenait de rechercher quelle était la réaction du milieu optimale pour que la précipitation fut totale.

Conditions de précipitation de l'acide urique par le sulfate de zinc et la soude

Nous avons examiné successivement les conditions de cette précipitation sur une solution d'acide urique pur et sur l'urine.

I. — *Influence de la réaction du milieu sur la précipitation de l'acide urique à l'état d'urate de zinc en opérant sur une solution d'acide urique pur.*

Dans quatre fioles d'Erlenmeyer, nous versons 100 c^m/ de solution (à 0 gr. 45 pour 1.000 c^m/) d'acide urique pur et 1 c^m/ de colorant (rouge de méthyle et bleu de bromothymol). Nous dissolvons 1 gramme de sulfate de zinc dans chaque

fiole et nous chauffons vers 60°-70° après avoir ajouté de la soude selon le tableau suivant :

Fioles	I	II	III	IV
Na OH (lessive à 36° B.) en gouttes.				
PH approximatif	7,6	7,0	6,5	6,0

Nous filtrons et nous complétons les filtrats à 100 c^{m3}. Dans chacun, nous ajoutons 15 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque et 15 c^{m3} d'ammoniaque. Aucun précipité n'apparaît dans les fioles même au bout de 15 heures, ce qui montre que l'acide urique a été totalement précipité. Une autre expérience nous montre qu'au PH = 5 à — 5,5 tout l'acide urique n'est pas précipité.

Remarque. — Les précipités sont de plus en plus volumineux quand l'alcalinité augmente (de IV à I) par suite de la formation plus abondante d'oxyde de zinc hydraté. Cependant, malgré la différence considérable du volume des précipités IV et I, l'acide urique est entièrement précipité dans les deux. Pour nous en assurer, les précipités IV et I sont dissous dans 5 c^{m3} d'acide chlorhydrique dilué au quart, selon le procédé de Sauzéat. Les cristaux d'acide urique obtenus sont dissous dans l'eau rendue alcaline par de la soude, puis après acidification sont traités selon la technique de Ronchèse.

Précipités	Iode $\frac{N}{10}$ consommé
I	5 c ^{m3} , 2
IV	5 c ^{m3} , 2

Donc, en milieu aqueux, une réaction alcaline n'est pas nécessaire. La précipitation est totale même en milieu légèrement acide (PH = 6,0). Nous avons constaté plus haut

qu'il n'en est pas de même pour l'urine et que, dans ce milieu, il faut une alcalinité assez forte pour précipiter intégralement l'acide urique.

II. — *Etude de la précipitation de l'acide urique de l'urine dans le procédé de Sauzéat, en fonction de la réaction du milieu.*

Nous avons d'abord recherché la quantité de soude à ajouter à un certain volume d'urine, additionné de sulfate de zinc, pour l'amener à un PH déterminé, en opérant, après filtration, au comparateur en présence d'un colorant approprié. Nous avons employé les réactifs suivants :

Lessive de soude à 36° B diluée au quart en volume.

Solution de sulfate de zinc dont 1 c^{m3}/ = 0 gr. 50.

Voici les résultats obtenus pour 100 c^{m3}/ d'urine examinée, additionnée de 2 c^{m3}/ de la solution de sulfate de zinc :

Solution de soude en gouttes	32	46	64
PH obtenu	7,0	8,0	9,0

Expérience : A 4 fioles contenant chacune 100 c^{m3}/ d'urine et 2 c^{m3}/ de solution de sulfate de zinc, nous ajoutons de la soude selon le tableau suivant :

Fioles N°	I	II	III	IV
Solution de soude en gouttes	32	46	64	3 c ^{m3} / de lessive de soude pure.
PH	7,0	8,0	9,0	> 9

Après avoir porté le mélange vers 70°-80°, nous filtrons et recueillons 80 c^{m3}/ du filtrat, auxquels nous ajoutons 12 gr. de chlorhydrate d'ammoniaque et 12 c^{m3}/ d'ammoniaque.

Après un contact de 12 heures au moins, nous constatons que dans toutes les fioles à l'exception de la fiole N° IV, il s'est formé un précipité d'urate d'ammoniaque. Ceux-ci sont recueillis et titrés selon la technique de Ronchèse par l'iode décínormal.

Résultats :

Précipité N°	I	II	III	IV
$C^{m/3}$ de $I \frac{N}{10}$	2,5	1,3	0,8	(pas de précipité)

Ces chiffres montrent nettement que la précipitation n'est complète qu'à partir de $PH = 9$.

CONCLUSIONS. — L'acide urique en solution aqueuse est totalement précipité par le sulfate de zinc dès que la réaction du milieu atteint un $P. H. = 6$. Dans l'urine au contraire, la précipitation n'est totale que lorsque le milieu a atteint un $P. H. > 9$. D'ailleurs, nous nous sommes assurés qu'une alcalinité supérieure ne nuisait pas. A quoi attribuer cette différence ? Pourquoi est-il plus difficile de précipiter l'acide urique de l'urine que celui d'une solution aqueuse ? Cela nous amène à supposer que l'état de l'acide urique dans l'urine n'est pas le même qu'en solution aqueuse et à admettre avec Rangier [10] que l'acide urique dans l'urine doit être « copulé » à une substance dont seule une alcalinité assez forte permet de le séparer (1).

(1) *Essai sur le titrage de l'acide urique dans l'urate de zinc par iodométrie.*

Sauzéat, dans son procédé, indique qu'on peut titrer l'acide urique du précipité d'urate de zinc, en dissolvant ce dernier dans de l'acide sulfurique et en employant le permanganate de potasse. Il nous a paru intéressant de voir si on ne pouvait pas utiliser l'iodométrie pour ce dosage.

L'urate de zinc dissous dans l'acide acétique donne un précipité abon-

§ II. — LE SORT DES BASES XANTHIQUES

Maintenant que nous avons défini les conditions de précipitation de l'acide urique, il nous reste à étudier le sort des bases xanthiques dans ce procédé. Si l'opinion de Sauzéat est exacte, dans le filtrat provenant de la séparation du précipité d'urate de zinc on devrait pouvoir retrouver les bases xanthiques en les précipitant par la mixture argenticomagnésienne de Denigès.

Nous avons cherché à vérifier d'abord le fait sur l'urine puis ensuite sur les bases puriques elles-mêmes, dont nous disposions.

I. — *Expérience sur l'urine.*

Dans une fiole jaugée de 200-220 c^{m3}/ contenant 200 c^{m3}/ d'urine, nous versons 4 c^{m3}/ de solution de sulfate de zinc, de la lessive de soude pour obtenir une alcalinité suffisante, et nous complétons avec de l'eau le volume à 220 c^{m3}/ . Après filtration, nous versons 100 c^{m3}/ du filtrat dans une fiole conique contenant déjà 25 c^{m3}/ de mixture précipitante de Denigès. Il ne se forme aucun précipité et si on continue le dosage selon Denigès, on retrouve intégralement l'argent versé. Il

dant lorsqu'on y ajoute du bicarbonate de potasse et du borate de soude. Nous avons pensé alors qu'un sel tampon n'absorbant pas d'iode et solubilisant l'urate de zinc en présence du bicarbonate de potasse et du borate de soude, nous permettrait peut-être le titrage par iodométrie. Le pyrophosphate de soude nous a semblé remplir ces conditions. La solution saturée du pyrophosphate de soude dont le P. H. est > 9 absorbe de l'iode, mais par addition de bicarbonate de potasse et de borate de soude, le P. H. de la solution est ramené à 8,5 environ et on ne constate plus aucune absorption d'iode.

Les résultats obtenus avec une solution d'acide urique pur ont été excellents. Malheureusement, il n'en a plus été de même en opérant sur l'urine, le virage en présence d'empois d'amidon étant dans ce cas très incertain.

résulte de cette expérience que les bases xanthiques de l'urine ont été retenues dans le précipité zincique. Cette expérience a été faite sur des urines très riches en bases xanthiques et contenant jusqu'à 0,35 de ces bases par litre.

Nous avons tenu à confirmer le résultat précédent en opérant sur la xanthine et l'hypoxanthine.

II. — *Expérience sur la xanthine et l'hypoxanthine.*

Nous avons appliqué la technique précédente à :

a) Une solution aqueuse de xanthine à 0 gr. 0870 pour 1.000 c^{m3}.

b) Une solution aqueuse d'hypoxanthine à 0 gr. 1056 pour 1.000 c^{m3}.

Dans les deux cas, nous n'avons constaté la formation d'aucun précipité. Pour plus de sécurité, nous avons recherché les bases dans le *précipité* même, en opérant de la façon suivante :

Après avoir versé dans une fiole conique 100 c^{m3} de solution d'hypoxanthine à 0 gr. 1940 par litre, puis 2 c^{m3} de solution de sulfate de zinc et avoir alcalinisé légèrement par de la lessive de soude, on recueille le précipité formé par centrifugation. Celui-ci est dissous dans un peu d'acide chlorhydrique.

On verse de l'ammoniaque jusqu'à ce qu'il se forme un léger précipité qu'on redissout par une goutte d'acide chlorhydrique. A ce liquide versé dans un ballon jaugé de 50-55 c^{m3}, on ajoute 11 c^{m3} de mixture argenticomagnésienne de Denigès et on complète le volume à 55 c^{m3} avec de l'eau. Après séparation du précipité formé par filtration, on recueille 50 c^{m3} du filtrat, auxquels on ajoute 5 c^{m3} d'ammonia-

que, 5 c^{m3}/ de solution $\frac{N}{10}$ de cyanure de potassium et X gouttes de solution d'iodure de potassium. On verse à la burette de la solution $\frac{N}{10}$ d'azotate d'argent jusqu'au virage.

Il a fallu verser 1,4 c^{m3}/ d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$ ce qui correspond à une teneur de 0,2096 d'hypoxanthine au lieu de 0,1940 par litre.

L'hypoxanthine et la xanthine sont donc totalement précipitées dans le procédé de Sauzéat. On peut remarquer accessoirement que la présence du zinc n'empêche pas la formation du précipité argentique qui se forme de préférence au sel de zinc.

Conclusion. — Par les expériences précédentes, nous montrons que, aussi bien dans l'urine qu'en solution aqueuse, les bases puriques sont intégralement précipitées par le sulfate de zinc en milieu alcalin et ne faisons par là que confirmer l'opinion de E. Salkowski [14].

Ne pouvant utiliser le procédé de Bellocq-Sauzéat pour séparer les bases xanthiques de l'acide urique, nous nous sommes adressé au procédé de Thiéry qui, lui, prétend précipiter totalement les bases xanthiques à l'exception de l'acide urique.

CHAPITRE II

ETUDE CRITIQUE DU PROCÉDÉ DE THIÉRY

I. — PRINCIPE.

Le principe de la méthode est une défécation au ferrocyanure de zinc. Par ce moyen d'après Thiéry [18], on précipiterait toutes les bases puriques à l'exception de l'acide urique. On doit donc retrouver celui-ci intégralement dans le filtrat.

II. — TECHNIQUE.

On utilise les solutions suivantes :

A) *Solution ferrocyanurée*

Ferrocyanure de potassium anhydre	150 gr.
Eau distillée q. s. p.	1000 c ^{m3} /

B) *Solution zincique*

Acétate de zinc pur anhydre	112 gr.
Eau q. s. p.	1000 c ^{m3} /
Acide acétique cristallisable	5 à 10 c ^{m3} /

Ce procédé de dosage comporte deux opérations :

Dans une première opération, on dose sur l'urine pure le bloc xantho-urique par la méthode de Denigès (1).

Dans une deuxième opération, pratiquée sur le filtrat provenant du traitement de l'urine par le ferrocyanure double de zinc et de potassium, on dose l'acide urique seul toujours par la méthode cyano-argentimétrique.

La différence entre les deux résultats ainsi obtenus, exprimés en acide urique, donne les bases xanthiques exprimées elles aussi en acide urique.

Voici comment se fait la deuxième opération, c'est-à-dire le dosage de l'acide urique seul :

- (1) Nous rappelons ici la méthode de Haycraft-Denigès (donnée par J. Guiart et L. Grimbert dans leur Précis de Diagnostic, 4^e édition, p. 816).

Solutions nécessaires :

Solution A. — C'est une solution demi-décinormale d'azotate d'argent obtenue en ajoutant un volume de solution d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$ à un volume de la solution suivante :

Chlorhydrate d'ammoniaque	150 gr.
Chlorure de magnésium	100 gr.
Ammoniaque pure	700 cc.
Eau distillée q. s. p.	1.000 cc.

Solution B. — Solution de cyanure de potassium $\frac{N}{10}$

Solution C. — Iodure de potassium 10 gr.
Ammoniaque 2 cc.
Eau distillée q. s. p. 100 cc.

Solution D. — Solution d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$

Technique du dosage :

Mettre dans un verre à expériences 25 cm^3 de solution A et 100 cm^3 d'urine. Agiter, filtrer sur un filtre à plis et recueillir 100 cm^3 de filtrat correspondant à 80 cm^3 d'urine et à 20 cm^3 de solution A (soit à 10 cm^3 d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$).

Les mettre dans un vase à saturation avec 10 cm^3 de solution de cyanure (B) et 20 gouttes de solution iodurée (C).

Verser avec une burette de Mohr la solution d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$

(D) jusqu'à opalescence persistante. Soit $\frac{N}{10}$ le nombre de centimètres cubes d'argent ainsi versés.

$\frac{N}{10} \times 0,21 =$ composés xantho-uriques, exprimés en acide urique par litre d'urine.

Dans un vase, verser successivement 200 c^{m3}/ d'urine et 20 c^{m3}/ de la solution ferrocyanurée. Bien mélanger, puis ajouter en agitant 20 c^{m3}/ de la solution zincique. Agiter fortement et jeter le tout sur un filtre à plis.

Recueillir 120 c^{m3}/ du filtrat correspondant à 100 c^{m3}/ d'urine et les verser dans une fiole contenant déjà 25 c^{m3}/ de mixture argentique de Denigès. Agiter et filtrer.

Prélever 116 c^{m3}/ du filtrat correspondant à 80 c^{m3}/ d'urine et continuer le dosage selon la technique de Denigès.

La quantité d'acide urique par litre d'urine sera donnée par la formule $Q = n \text{ c}^{\text{m}3}/ \times 0,21$.

III. — CRITIQUE.

Il importe à notre avis pour apprécier l'acide urique du filtrat de ne pas employer le titrage à l'argent puisque celui-ci doserait aussi les bases puriques non précipitées, le cas échéant. Nous ferons donc la précipitation de l'acide urique dans le filtrat par le procédé de Ronchèse et nous titrerons celui-ci par l'iode.

Nous serons certains ainsi de ne doser que « l'acide urique seul ». Le procédé de Ronchèse est en effet applicable pour la précipitation de l'acide urique dans le filtrat puisque, après la défécation, il ne reste dans ce dernier que de l'acétate de potasse. Or, nous avons vérifié que l'acétate de potasse n'apportait aucune perturbation dans la précipitation de l'acide urique par le chlorhydrate d'ammoniaque et l'ammoniaque.

Quelques expériences préliminaires nous ayant montré que la séparation des bases xanthiques et de l'acide urique par ce procédé n'était peut-être pas intégrale, nous avons pensé que certains de nos résultats pouvaient s'expliquer en

supposant que, d'une part un peu d'acide urique est précipité par le ferrocyanure de zinc et que d'autre part une partie des bases xanthiques échappe à la précipitation. Il pourrait alors se produire une compensation entre l'acide urique disparu et les bases non précipitées, ce qui expliquerait les résultats trouvés concordants avec ceux de Ronchèse exécutés directement sur l'urine.

Nous avons cherché à mettre ce fait en évidence en faisant dans une urine les dosages suivants :

1° Dosage par la méthode de Denigès sur l'urine *non déféquée*, ce qui donne le *bloc xantho-urique*.

2° Ronchèse sur l'urine non déféquée mais diluée comme dans le procédé de Thiéry.

3° Denigès sur le filtrat de l'urine déféquée par le procédé de Thiéry.

4° Ronchèse sur le filtrat de l'urine déféquée par le procédé de Thiéry.

Si la séparation indiquée par Thiéry est complète, il devrait y avoir concordance entre les trois derniers résultats (Ronchèse sur l'urine non déféquée; Ronchèse et Denigès sur l'urine déféquée).

Les écarts à observer n'étant pas très considérables, pour nous mettre à l'abri de toute critique, nous avons d'abord vérifié si les liqueurs de Denigès et la solution d'iode décimale que nous utilisons correspondaient parfaitement entre elles au début et à la fin de nos expériences.

Vérification des solutions d'iode $\frac{N}{10}$ et de Denigès par dosage de l'acide urique pur.

Acide urique pesé	0 gr. 213
Acide urique trouvé par Ronchèse en $c^{m\%}$ = 5,2	= 0 gr. 218
Acide urique trouvé par Denigès en $c^{m\%}$ = 5,1	= 0 gr. 215

La même vérification a été faite à la fin de notre série d'expériences :

Acide urique pesé 0 gr. 246

Acide urique trouvé par Ronchèse en $c^{m/} = 5,8 = 0$ gr. 243

Acide urique trouvé par Denigès en $c^{m/} = 6,0 = 0$ gr. 252

On peut remarquer que 0,05 $c^{m/}$ en moins dans le dosage par le procédé de Denigès, ce qui est tout à fait de l'ordre des erreurs d'expériences, ramènerait le résultat à 0,246.

Les deux méthodes appliquées sur l'acide urique pur mènent donc à des résultats pratiquement identiques. Nous avons alors opéré suivant le schéma ci-dessus sur quatre urines.

Résultats :

Résultats exprimés en milligrammes
d'acide urique par litre

	Urines N°			
	I	II	III	IV
1. Denigès total	0,745	0,514	0,640	0,882
2. Ronchèse sur l'urine diluée	0,589	0,403	0,463	0,490
3. Denigès sur le filtrat de Thiéry	0,619	0,462	0,451	0,661
4. Ronchèse sur le filtrat de Thiréy	0,564	0,418	0,433	0,470

Si nous ramenons le nombre de centimètres cubes d'iode $\frac{N}{10}$ (pour le Ronchèse) ou d'azotate d'argent $\frac{N}{20}$ (pour le Denigès) consommés à 100 $c^{m/}$ d'urine, nous obtenons les chiffres suivants :

	Urines N°			
	I	II	III	IV
Denigès sur le filtrat de Thiéry	7,3	5,4	5,3	7,8
Ronchèse sur le filtrat de Thiéry	6,7	4,9	5,1	5,6

Ce tableau est destiné à montrer que les différences trouvées sont plus grandes que les erreurs de l'expérience étant donné que ces dosages se font à 0 $c^{m/}$ 05 — 0 $c^{m/}$ 10 près.

On voit :

1° Que, sauf un cas, le Ronchèse sur le filtrat de l'urine déféquée selon Thiéry donne un résultat *toujours inférieur* à celui du Ronchèse exécuté directement sur l'urine non déféquée, ce qui montre qu'il y a un peu d'acide urique précipité par le ferrocyanure de zinc.

2° Que sur le filtrat de l'urine déféquée selon Thiéry, le procédé de Denigès donne toujours un *résultat supérieur* à celui de Ronchèse sur ce même filtrat, ce qui prouve qu'il reste des bases xanthiques qui n'ont pas été précipitées par le ferrocyanure de zinc (1).

Ces diverses comparaisons permettent de penser que le ferrocyanure de zinc n'entraîne pratiquement que de faibles quantités d'acide urique, mais que d'autre part, il ne précipite pas complètement les bases xanthiques.

Nous avons tenu à vérifier ces dernières conséquences par des expériences directes sur des solutions de xanthine et d'hypoxanthine.

La xanthine et l'hypoxanthine sont-elles entièrement précipitées par la défécation au ferrocyanure de zinc du procédé de Thiéry ?

- (1) Le tableau ci-dessous permet de plus de remarquer que le plus gros excès d'acide urique d'après le Denigès sur le filtrat du Thiéry par rapport au Ronchèse sur le même filtrat, correspond à l'urine la plus riche en bases xanthiques (urine n° IV). Par contre, la perte en acide urique la plus forte n'est que de 0,472 — 0,433 = 0,039 par litre (urine n° III).

	Urines N°			
	I	II	III	IV
Teneur en bases xanthiques	0 gr. 164	0 gr. 101	0 gr. 168	0 gr. 377
Différence entre l'acide urique par le Denigès et l'acide urique par le Ronchèse dans le filtrat du Thiéry	0 gr. 055	0 gr. 044	0 gr. 018	0 gr. 19

1° *Expérience sur la xanthine :*

200 c^{m3}/ d'une solution de xanthine à 0 gr. 0795 par litre ont été traités selon le procédé de Thiéry. A 100 c^{m3}/ du filtrat, nous avons ajouté 25 c^{m3}/ de la mixture argenticomagnésienne de Denigès et nous avons constaté la formation d'un précipité de xanthine argentique. Donc, la xanthine n'a pas été entièrement précipitée par le ferrocyanure de zinc.

2° *Expérience sur l'hypoxanthine :*

Même expérience que précédemment sur une solution d'hypoxanthine à 0 gr. 1834 par litre. Tout d'abord, nous avons titré cette solution par le procédé de Denigès qui a demandé 2,45 c^{m3}/ d'azotate d'argent $\frac{N}{40}$ pour 100 c^{m3}/ de la solution.

Après défécation selon le procédé de Thiéry, 100 c^{m3}/ du filtrat additionnés de 25 c^{m3}/ de mixture argentique de Denigès ont donné un précipité d'hypoxanthine argentique. Cette fois-ci, nous avons continué le dosage pour nous rendre compte de la quantité d'hypoxanthine qui n'avait pas été retenue par le ferrocyanure de zinc.

a) Nous avons dû verser 1,75 c^{m3}/ d'azotate d'argent $\frac{N}{40}$ ce qui correspond à 2,1 c^{m3}/ pour 100 c^{m3}/ de solution d'hypoxanthine.

b) La même expérience faite sur la solution d'hypoxanthine diluée au demi en volume, n'a absorbé que 0,54 c^{m3}/ d'azotate d'argent pour 100 c^{m3}/ de solution d'hypoxanthine.

c) Dans la même expérience sur la solution diluée au quart, nous n'avons observé qu'un infime précipité. Donc, au titre de 0 gr. 045 par litre, l'hypoxanthine serait totalement précipitée par le ferrocyanure de zinc.

CONCLUSION. — Les expériences précédentes nous mon-

trent que la séparation des bases xanthiques et de l'acide urique par le ferrocyanure de zinc est imparfaite et que nous ne pouvons pas utiliser le procédé de Thiéry pour le but poursuivi.

Nous devons donc abandonner les procédés utilisant les sels de zinc.

CHAPITRE III

ETUDE DES PROCÉDÉS UTILISANT L'AMMONIAQUE ET SES SELS

Le procédé de Ronchèse ainsi que son adaptation par Telle semblaient devoir nous permettre, en plus d'une séparation facile de l'acide urique, une précipitation totale des bases xanthiques restant dans le filtrat, par le procédé de Denigès. C'est dans ce sens que nous avons examiné successivement les deux procédés.

§ I. — ESSAI DE PRÉCIPITATION DES BASES XANTHIQUES PAR L'ARGENT APRÈS ÉLIMINATION DE L'ACIDE URIQUE PAR LE PROCÉDÉ DE RONCHÈSE.

Après avoir éliminé l'acide urique par le procédé de Ronchèse, nous avons recueilli le filtrat et le liquide ayant servi au lavage du précipité. Nous avons amené alors le tout à un volume de 150 c^{m3}/ et nous avons prélevé 100 c^{m3}/ de cette liqueur que nous avons versés dans une fiole contenant déjà 25 c^{m3}/ de mixture argentique de Denigès. Nous avons continué le dosage selon la technique de Denigès.

Dès les premiers essais, nous avons constaté que la quantité d'argent disparue était insignifiante et que les résultats obtenus ne correspondaient pas du tout aux résultats attendus. Voici en effet, un exemple des expériences faites dans ce sens :

L'urine examinée contenait :

1. *Selon le procédé de Denigès*
1 gr. 186 de composés xantho-uriques par litre.
2. *Selon le procédé de Ronchèse*
0 gr. 752 d'acide urique par litre.
et par conséquent
0 gr. 434 de bases xanthiques (exprimées en acide urique).

Or, en appliquant le procédé de Denigès au filtrat du Ronchèse, nous ne retrouvons que 0 gr. 1155 de bases xanthiques par litre.

Devant les résultats très inférieurs que nous obtenions nous avons d'abord pensé à la possibilité de l'arrêt des bases xanthiques sur le filtre par le précipité d'urate d'ammoniaque ou même de la précipitation partielle de ces bases par les sels ammoniacaux (Cazé [1]). Pour éclaircir ce point, nous avons eu l'idée de comparer sur *des précipités d'urate d'ammoniaque* provenant de la même urine, les résultats obtenus par le procédé de Ronchèse à ceux donnés par la méthode de Denigès. En effet, d'une part l'iode nous permettant de ne doser que l'acide urique seul, même en présence des bases xanthiques, et d'autre part, l'argent nous permettant de doser tout ensemble l'acide urique et les bases puriques, si une partie de ces bases était retenue par le précipité le chiffre obtenu par le procédé à l'argent appliqué au précipité devait être plus fort que celui donné par le procédé à l'iode, et la différence entre les deux, représenterait la quantité des bases xanthiques retenue sur le filtre.

EXPÉRIENCE. — Nous préparions deux précipités d'urate d'ammoniaque selon le procédé de Ronchèse en ayant

(1) Cazé — Thèse de Pharmacie — Lille 1895, p. 8 ;

soin de laver les deux précipités avec exactement le même volume (3 fois 10 c^{m3}) de la solution de Ronchèse.

A) Le précipité N° I entraîné dans une fiole conique par un jet de pissette et dissous à l'aide d'acide acétique dilué, était dosé selon la technique de Ronchèse.

B) Le précipité N° II entraîné dans un vase jaugé de 100 c^{m3} était dissous par quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 %. Après avoir amené le volume à 100 c^{m3} avec de l'eau, cette solution était versée dans une fiole contenant déjà 25 c^{m3} de mixture argentique de Denigès. Le dosage était continué selon la technique de celui-ci.

Nota. — Il faut opérer très rapidement après la dissolution de l'urate d'ammoniaque par quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué, car il arrive, surtout dans les urines riches en acide urique, que celui-ci précipite alors. Dans ce cas, redissoudre le précipité dans quelques gouttes de lessive de soude, puis ajouter de nouveau l'acide chlorhydrique et continuer.

Résultats :

	Urines				
	I	II	III	IV	V
Ronchèse	0 gr. 638	0 gr. 579	0 gr. 247	0 gr. 298	0 gr. 504
Denigès sur l'urate d'ammoniaque	0 gr. 609	0 gr. 588	0 gr. 252	0 gr. 294	0 gr. 504

Ce tableau nous montre qu'il y a coïncidence tout à fait satisfaisante entre les résultats trouvés par les deux méthodes et par conséquent que le précipité d'urate d'ammoniaque ne retient pas de bases xanthiques. Celles-ci doivent donc se retrouver dans le filtrat. Mais avant de chercher quelle est la raison pour laquelle ces bases ne précipitent pas dans le fil-

trat par la mixture argentique de Denigès, nous avons tenu à vérifier le procédé de Telle, dans lequel on emploie une proportion plus forte de chlorhydrate d'ammoniaque et d'ammoniaque pour précipiter l'acide urique.

§ II. — ETUDE CRITIQUE DU PROCÉDÉ DE TELLE [17]

La modification apportée par Telle au procédé de Ronchèse consiste à ajouter à l'urine du borate de soude pour solubiliser l'acide urique et en éviter les pertes lors de la filtration. L'auteur ajoute que le filtrat se prête très bien au dosage des bases xanthiques par la méthode de Denigès. C'est ce qui nous a amené à étudier ce procédé dans le but de l'utiliser pour la séparation de l'acide urique des bases xanthiques.

Exposé du procédé :

Dans une fiole de 100-110 c^{m^3} , on verse 100 c^{m^3} d'urine et on complète à 110 c^{m^3} avec une solution saturée de borate de soude. Après filtration, on prélève 55 c^{m^3} du filtrat correspondant à 50 c^{m^3} d'urine. On y dissout 10 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque et on ajoute 10 c^{m^3} d'ammoniaque. On agite et on laisse en repos une heure dans un endroit frais. On filtre et on lave le précipité trois fois avec 10 c^{m^3} chaque fois de la solution suivante :

Sufate d'ammoniaque pur	125 gr.
Ammoniaque	100 c^{m^3}
Eau disillée q. s. p.	1.000 c^{m^3}

On reçoit le liquide filtré et les eaux de lavage dans un vase jaugé de 100 c^{m^3} .

a) *Dosage de l'acide urique.* — On introduit le filtre dans une fiole conique de 300 c^{m^3} renfermant 150 c^{m^3} d'eau dis-

tillée dans laquelle on délaie le précipité par agitation. Après avoir ajouté 10 c^{m3}/ d'acide sulfurique dilué au demi, on fait tomber une solution décijnormale de permanganate de potasse jusqu'à coloration rose persistante.

L'acide urique par litre = $n \text{ c}^{\text{m3}}/ \times 0,00765 \times 20 = 0,153 \times n$.

b) *Dosage des purines.* — Le liquide filtré et séparé de l'urate d'ammoniaque est complété à 100 c^{m3}/. On ajoute 25 c^{m3}/ de la solution argentico-magnésienne de Denigès, et on continue le dosage selon la technique de Denigès.

$n \text{ c}^{\text{m3}}/ \times 0,42 =$ la quantité de purines par litre.

Nous avons appliqué le procédé de Telle à des urines préalablement étudiées et nous ayant donné les résultats suivants :

	Urine I	Urine II
Composés xantho-uriques		
(par le procédé de Denigès)	0 gr. 913	0 gr. 714
Acide urique (par procédé de Ronchèse)	0 gr. 546	0 gr. 598
Bases puriques (par différence)	0 gr. 367	0 gr. 116

Résultats :

Résultats obtenus dans le dosage des purines selon le procédé de Telle :

	Urine I	Urine II
en cm ³	0cc.1 0cc.2	0cc.1 0cc.15
soit en bases puriques	0 gr. 042	0 gr. 042
calculées selon Telle	0 gr. 084	0 gr. 063
au lieu de	0 gr. 367	0 gr. 116

Ne retrouvant pas non plus les bases xanthiques dans le procédé de Telle, nous avons été amené à faire la même comparaison que précédemment entre les dosages par l'iode et

par l'argent sur les précipités d'urate d'ammoniaque obtenus dans ce procédé pour nous assurer que les bases xanthiques n'étaient pas retenues sur le filtre.

Expérience :

Après avoir préparé deux précipités semblables d'urate d'ammoniaque selon la technique de Telle, nous avons dosé le premier par l'iode et le second par l'argent en opérant comme précédemment.

Résultats :

	<i>Urine N° I</i>	<i>Urine N° II</i>
Par Ronchèse	o gr. 453	o gr. 495
Par Denigès	o gr. 462	o gr. 493

Conclusion :

De même que dans le procédé de Ronchèse, dans le procédé de Telle, les bases xanthiques ne sont pas retenues sur le filtre et doivent par conséquent se retrouver dans le filtrat.

§ III. — POURQUOI LES BASES XANTHIQUES NE SONT-ELLES PAS PRÉCIPITÉES PAR LA MIXTURE ARGENTIQUE DANS LES FILTRATS DES PROCÉDÉS DE RONCHÈSE ET DE TELLE ?

Ainsi que nous l'avons constaté, après la séparation de l'acide urique des bases xanthiques, soit par le procédé de Ronchèse, soit par celui de Telle, celles-ci ne précipitent plus ensuite par l'argent. Comment expliquer ce fait ? Tout d'abord, nous avons pensé à la possibilité d'une destruction partielle de ces bases en milieu si fortement ammoniacal, mais comment admettre une destruction si rapide qu'en une demi heure sur o gr. 434 de ces bases, il n'en reste plus que

0 gr. 115 ? Il nous a paru plus logique de supposer que, dans ce milieu ammoniacal, la précipitation des purines par l'argent était retardée ou que leurs combinaisons argentiques étaient solubilisées. Nous avons cherché à vérifier cette hypothèse sur des solutions pures de xanthine et d'hypoxanthine.

1° *Essai sur une solution de xanthine à 0 gr. 0855 par litre.*

A 100 c^{m3}/ de la solution de xanthine contenus dans une fiole conique, nous avons ajouté 15 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque et 15 c^{m3}/ d'ammoniaque. Après avoir amené le volume à 150 c^{m3}/ avec de l'eau distillée, nous avons versé 100 c^{m3}/ de cette solution dans une fiole contenant déjà 25 c^{m3}/ de mixture argentique de Denigès et nous n'avons constaté la formation d'aucun précipité. Nous avons laissé ce mélange en observation et nous avons pu voir ainsi que la précipitation ne commençait à peine que trois heures après et de plus qu'elle n'était pas totale.

2° *Essai sur une solution d'hypoxanthine à 0 gr. 2510 par litre*

Même expérience que précédemment. De même que pour la solution de xanthine nous n'avons obtenu aucun précipité. Celui-ci n'a commencé à se former qu'après 4 heures trois quarts de contact. Nous avons fait deux expériences semblables, dans lesquelles nous avons continué le dosage selon Denigès. Après 14 heures de contact, il n'y avait que 0 gr. 1085 d'hypoxanthine précipitée par litre au lieu de 0 gr. 2510. Après 43 heures, il n'y en avait que 0 gr. 1106.

Il nous a paru intéressant de savoir si c'est à l'ammoniaque, au chlorhydrate d'ammoniaque, ou au mélange des deux qu'il convient d'attribuer cette action sur la précipita-

tion des bases xanthiques par la mixture argentique. Pour cela, nous avons fait les expériences schématisées ci-dessous :

1° *Essai sur la solution de xanthine.*

Tube n° 1	solution de xanthine mixture argentique	10cc 2,5cc	il se forme un précipité immédiat
Tube n° 2	solution de xanthine ammoniaque chlorhydrate d'ammon. mixture argentique	10 1,5 1,5 2,5	il ne se forme aucun précipité même au bout de deux heures
Tube n° 3	solution de xanthine ammoniaque mixture argentique	10 1,5 2,5	il se forme un précipité immédiat
Tube n° 4	solution de xanthine chlorhydrate d'ammon. mixture argentique	10 1,5 2,5	il ne se forme pas de précipité immédiat. Celui-ci n'apparaît qu'après une heure.

D'après ces expériences, nous voyons que c'est le chlorhydrate d'ammoniaque surtout qui entrave la précipitation de la xanthine par l'argent, mais que son mélange avec l'ammoniaque a encore une action plus prononcée.

2° *Essai sur la solution d'hypoxanthine.*

Tube n° 1	solution d'hypoxanthine mixture argentique	10 2,5	il se forme un précipité immédiat
Tube n° 2	solution d'hypoxanthine ammoniaque chlorhydrate d'ammon. mixture argentique	10 1,5 1,5 2,5	il ne se forme pas de précipité immédiat. Celui-ci n'apparaît qu'après 4 à 5 heures
Tube n° 3	solution d'hypoxanthine ammoniaque mixture argentique	10 1,5 2,5	il se forme un précipité immédiat
Tube n° 4	solution d'hypoxanthine chlorhydrate d'ammon. mixture argentique	10 1,5 2,5	il se forme un précipité immédiat

D'autre part, si nous ajoutons 1 gr. 5 de chlorhydrate

d'ammoniaque au tube N° 3, nous dissolvons le précipité formé. Il en est de même en versant 1,5 c^{m3}/ d'ammoniaque dans le tube N° 4.

Ces expériences montrent très nettement l'influence entravante considérable, selon les cas, soit de l'ammoniaque et du chlorhydrate d'ammoniaque, soit du mélange des deux, sur la précipitation des bases xanthiques et nous expliquent les résultats obtenus sur l'urine.

Puisque c'était à la présence simultanée de l'ammoniaque et du chlorhydrate d'ammoniaque qu'il fallait attribuer l'absence de la précipitation des bases xanthiques par la mixture de Denigès, nous avons tenté de faciliter cette précipitation, en diminuant la proportion, soit de chacun de ces réactifs par un artifice quelconque, soit des deux ensemble par simple dilution, en ramenant exactement les proportions des réactifs entre eux à celles du procédé de Denigès. Tous les essais faits dans ce sens ont été négatifs (1).

Conclusions : Des résultats précédents, il ressort que l'élimination de l'acide urique à l'état d'urate d'ammoniaque

(1) Chose curieuse, des expériences nous ont montré que les bases xanthiques séparées de l'acide urique par le procédé de Ronchèse et ne précipitant pas par la mixture argentique de Denigès en présence du chlorhydrate d'ammoniaque et de l'ammoniaque, précipitaient si on réintroduisait alors l'acide urique préalablement séparé à l'état d'urate d'ammoniaque et redissous à l'aide de quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Le même résultat était obtenu par addition d'une solution d'acide urique pur. Nous avons voulu voir si ce fait ne pouvait pas être attribué à un entraînement tout mécanique du au précipité assez gélatineux d'urate d'argent. Aussi, nous avons essayé de produire la précipitation des bases puriques par l'argent dans les conditions précédentes en provoquant en même temps la formation d'un précipité gélatineux d'hydrate ferrique. Cet essai a été totalement négatif.

par les procédés de Ronchèse et de Telle, bien que les bases xanthiques ne soient nullement entraînées, n'est pas utilisable pour la séparation de ces bases, car le milieu s'oppose à la précipitation subséquente de ces dernières à l'état de combinaisons argentiques.

CHAPITRE IV

REVUE DES PROCÉDÉS UTILISANT LES SELS DE CUIVRE

Parmi les procédés utilisant les sels de cuivre, nous avons étudié ceux de Krüger et de Ducung.

Etude du procédé de Krüger [9]

Technique (1) : Selon Thiefelder, prendre 200 c^{m3}/ d'urine, les verser dans un ballon à fond rond de un litre, ajouter 24 grammes d'acétate de soude et 40 c^{m3}/ de solution de bisulfite de soude, chauffer à l'ébullition et après addition de 40 à 80 c^{m3}/ de solution de sulfate de cuivre à 10 %, on chauffe à l'ébullition qu'on maintient au moins trois minutes. Le précipité est séparé par filtration immédiate et lavé à l'eau chaude jusqu'à ce que le filtrat passe incolore et enfin le précipité mis en suspension dans l'eau acidulée par de l'acide chlorhydrique, est traité par H²S. Après filtration et lavage du précipité, on concentre le liquide par évaporation et on laisse cristalliser l'acide urique.

Les dosages d'acide urique faits par ce procédé nous ont donné d'excellents résultats. Cependant, il ne présentait aucun

(1) Selon la technique de Thiefelder dans Hoppe-Seylers Handbuch, 7^e édition, page 435.

avantage à notre point de vue sur celui de Salkowski, puisque toutes les bases xanthiques y sont précipitées aussi en même temps que l'acide urique. Nous l'avons cependant étudié parce que c'est lui qui a permis à Krüger et Salomon l'extraction et l'étude des bases xanthiques de l'urine humaine. Nous n'avons pas utilisé le procédé pour des raisons que nous exposerons plus loin. Par contre, le procédé suivant que nous avons étudié ensuite, nous promettait une séparation facile de l'acide urique *seul* à l'état d'urate cuivreux.

Etude du procédé de Ducung [10]

Principe : Si à une urine rendue alcaline par du carbonate de soude, on ajoute de l'hyposulfite de cuivre, celui-ci précipite intégralement l'acide urique à l'état d'urate cuivreux et à l'exception des bases xanthiques.

Le dosage de l'acide urique par ce procédé nécessite l'emploi des deux solutions suivantes :

Solution A :

Sulfate de cuivre pur	4 gr. 47
Acide sulfurique	V gouttes
Eau distillée q. s. p.	1.000 c ^{m3}

Solution B :

Hyposulfite de soude	45 gr.
Sel de Seignette	45 gr.
Eau distillée q. s. p.	1.000 c ^{m3}

Le mélange à volumes égaux de ces deux liqueurs précipite dans l'urine un milligramme d'acide urique par centimètre cube.

On ajoute une quantité connue de ce réactif à 10 c^{m3} d'urine additionnée préalablement de 1 c^{m3} de solution saturée

de carbonate de soude. Après un contact de dix minutes au moins, on filtre et on prélève le filtrat qu'on divise dans deux tubes à essai. Le dosage se fait par la méthode des approximations successives à l'aide d'une solution d'acide urique dans de la soude diluée et du réactif à l'hyposulfite de cuivre comme réactifs indicateurs.

Nous espérions pouvoir précipiter les bases xanthiques du filtrat par la mixture argentique de Denigès, mais un essai nous a montré que le réactif de Ducung ajouté à la mixture argentique produisait un précipité grisâtre. Il fallait renoncer à l'espoir de précipiter exactement l'acide urique sans excès de réactif, précision trop difficile à réaliser, d'autant plus que, comme l'a montré Rangier, il y a toujours un tiers en plus du réactif qui n'entre pas en réaction avec l'acide urique.

Nous aurions pu essayer, dans ce procédé, de précipiter ensuite les bases xanthiques restant dans le filtrat par le sulfate de cuivre à chaud selon Krüger, puis de libérer les bases de leur combinaison cuivrique par l'hydrogène sulfuré par exemple pour les précipiter ultérieurement par l'argent et faire l'étude du rapport $\frac{Ag}{Az}$ sur ce précipité. Cette méthode ne nous offrant pas d'avantages, nous avons préféré nous adresser de suite à la méthode de Salkowski en nous réservant cependant de tenter l'utilisation de la méthode de Ducung si besoin en était.

Pour terminer cette étude des méthodes utilisant les sels de cuivre, nous mentionnerons le désaccord qui existe entre les partisans de la méthode cuivrique et ceux de la méthode argentique de Salkowski que nous allons étudier un peu plus loin. La discussion née dès l'apparition de la méthode de Krüger (1894) n'est pas encore close aujourd'hui. Les purines étant déterminées par leur azote, il s'agis-

sait de savoir si les chiffres plus forts fournis par la méthode cuivrique étaient dus à un dosage plus exact des purines ou à l'entraînement d'impuretés azotées. Certains, entre autre Salkowski lui-même [13], estiment que les chiffres plus faibles obtenus par le procédé à l'argent doivent être attribués à la légère solubilité des combinaisons argentiques dans l'eau chaude ou ammoniacale des lavages en l'absence d'un excès d'argent. Cependant, d'après Sauzéat [15 p. 90], la solubilité de l'urate de cuivre dans l'eau serait de 0 milligramme 7 %, tandis que celle de l'urate argenticomagnésien ne serait que de 0 milligramme 3 %.

D'autre part, il semble très probable dans le cas de l'urine qui nous intéresse, que quelques substances azotées étrangères peuvent être entraînées dans la précipitation cuivrique. La question a été soulevée par H. Steudel et Sung-Sheng Chou [16]. Mais les travaux de S. Dombrowski et de J. Browinski [4] sur l'urochrome peuvent être considérés comme confirmant cette opinion.

Ces auteurs en effet précipitent l'urochrome, substance azotée, par l'acétate de cuivre en milieu aussi neutre que possible dans les conditions mêmes où tout ou partie des bases xanthiques le sont elle-mêmes. Bien mieux, ils apprécient l'urochrome par différence entre un dosage d'azote sur le précipité argenticomagnésien et un dosage d'azote sur le précipité cuivrique.

C'est pourquoi nous avons porté notre principal effort sur la méthode argentique qui semblait devoir nous fournir des précipités plus purs.

Deuxième Partie

Dosage des bases xanthiques,
détermination et étude du rapport $\frac{Ag}{Az}$ sur le
précipité argentique de ces bases

DEUXIÈME PARTIE

Dosage des bases xanthiques, détermination et étude du rapport $\frac{Ag}{AZ}$ sur le précipité argentique de ces bases

Dans cette deuxième partie, qui constitue la partie positive de notre travail, nous faisons, dans un premier chapitre, l'étude critique de la méthode de Salkowski-Ludwig. Cette étude nous sert de base pour établir, dans le deuxième chapitre, les divers points de notre technique. Le troisième chapitre est consacré à l'application de cette technique à l'urine. Enfin, dans le dernier, nous donnons quelques résultats obtenus par cette méthode et les conclusions que nous en avons tirées.

CHAPITRE PREMIER

ETUDE CRITIQUE DE LA MÉTHODE DE SALKOWSKI-LUDWIG

Nous avons terminé notre étude des différentes méthodes de précipitation de l'acide urique par celle du procédé de Salkowski. Cette méthode, la première en date, est celle qui reste encore aujourd'hui la méthode de choix. Après avoir servi de base à l'établissement des autres méthodes, c'est elle encore qui est utilisée aujourd'hui pour le dosage rigoureux de l'acide urique et surtout pour le contrôle des résultats discutés. Cependant, la longueur de la méthode et les soins méticuleux qu'il faut y apporter en rendent l'emploi peu agréable. Nous avons étudié surtout sa modification apportée par Ludwig [12].

I. — PRINCIPE DE LA MÉTHODE DE SALKOWSKI-LUDWIG

Lorsqu'on traite l'urine par une mixture contenant de l'ammoniaque, du chlorhydrate d'ammoniaque, du chlorure de magnésium et de l'azotate d'argent, tout l'acide urique est précipité sous forme d'urate double d'argent et de magnésium.

En faisant agir sur le précipité ainsi obtenu une solution de monosulfure de sodium, on forme du sulfure d'argent insoluble et de l'urate de soude relativement soluble. On a

ainsi la totalité de l'acide urique sous forme de sel de soude à l'exception des substances extractives de l'urine.

Cette solution d'urate de soude est ensuite évaporée en présence d'acide chlorhydrique jusqu'à obtention d'un petit volume de liquide. On laisse au repos dans un endroit frais. L'acide urique se dépose, souillé de soufre. On le lave à l'aide de divers dissolvants : alcool, éther, sulfure de carbone qui laissent l'acide urique seul ; on le sèche et on le pèse.

II. — SOLUTIONS NÉCESSAIRES

1° Solution A. (argentique).

Dissoudre 26 grammes de nitrate d'argent dans 200 c^{m3}/ environ d'eau distillée ; ajouter de l'ammoniaque formant un précipité jusqu'à redissolution de ce précipité ; ajouter de l'eau distillée de façon à obtenir un litre de solution.

2° Solution B. (magnésienne).

Dissoudre 100 grammes de chlorure de magnésium cristallisé et 150 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque dans 600 c^{m3}/ environ d'eau distillée. Ajouter de l'ammoniaque jusqu'à odeur forte. Compléter avec de l'eau distillée et filtrer après quelques jours.

3° Solution C. (sulfurée).

Dissoudre 20 grammes de monosulfure de sodium pur dans un litre d'eau distillée. Celui-ci doit être exempt de nitrites et de nitrates.

III. — TECHNIQUE

Mettre dans un vase à précipiter 200 c^{m3}/ d'urine ne contenant pas d'albumine.

Ajouter 20 c^{m3}/ de solution A. et 20 c^{m3}/ de solution B.

préalablement mélangés et additionnés d'ammoniaque jusqu'à redissolution du précipité formé. Agiter et laisser reposer une heure.

Filtrer. Laver plusieurs fois le précipité d'urate obtenu à l'aide d'une solution d'ammoniaque à 1 pour 100.

Déplier le filtre avec précaution et, par un jet de pissette, faire tomber le précipité dans un vase à filtrations chaudes.

Verser sur le contenu du vase 10 c^{m3}/ de la solution C. additionnés de 10 c^{m3}/ d'eau distillée. Agiter et porter quelques minutes au B. M.

Filtrer et épuiser le précipité par de l'eau bouillante en recevant le liquide et les eaux de lavage dans une capsule de porcelaine.

Aciduler le contenu de la capsule par de l'acide chlorhydrique et le réduire par évaporation au bain-marie à 20 c^{m3}/ environ.

Abandonner au repos dans un endroit frais pendant vingt-quatre heures.

Recueillir le précipité d'acide urique formé sur un filtre taré. Le laver à l'alcool, à l'éther, au sulfure de carbone (pour dissoudre le soufre), puis de nouveau à l'éther.

Dessécher à 110° et le peser. On a ainsi le poids d'acide urique contenu dans 200 c^{m3}/ d'urine.

Pour obtenir des résultats tout à fait exacts, il faut faire subir au chiffre trouvé des corrections dues à la solubilité de l'acide urique.

Cette méthode, comme nous l'avons déjà dit, est considérée comme la plus exacte que l'on connaisse.

Pour nous rendre compte personnellement de cette valeur, nous avons voulu comparer sur une même urine la méthode

de Salkowski avec celles de Ronchèse et de Krüger. Voici nos résultats :

Salkowski	Ronchèse	Krüger
0,421	0,413	0,404
	0,421	

La concordance est tout à fait satisfaisante et par cela même confirme la valeur bien établie de la méthode de Ronchèse.

IV. — OBSERVATIONS SUR LA TECHNIQUE

Dans nos premiers dosages d'acide urique par la méthode de Salkowski, nous avons eu quelques échecs dus à la précipitation de l'acide urique pendant la filtration suivant le traitement du précipité argentique par l'hydrogène sulfuré. Nous avons pu remarquer que, dans la méthode modifiée par Ludwig, l'acide urique étant à l'état d'urate de soude, cet inconvénient ne se présentait pas. Cependant, dans l'emploi de l'une et de l'autre méthode, on ne saurait trop insister sur le soin à apporter aux lavages du précipité de sulfure d'argent, et c'est à l'insuffisance de ces lavages qu'on doit attribuer la plupart des mauvais résultats. Il faut signaler aussi le retard apporté dans certains dosages par la formation de sulfure d'argent colloïdal qu'il est quelques fois assez long de faire coaguler au B. M.

Comme c'est dans les eaux mères, et les eaux de lavage de l'acide urique séparé par ce procédé qu'on détermine les bases xanthiques en y dosant l'azote, on conçoit alors qu'il soit nécessaire de laver bien à fond le précipité argentique, car toutes les impuretés azotées entraînées par ce précipité se trouveraient accumulées dans les eaux mères et souilleraient ainsi notre second précipité argentique. Salkowski pre-

nait comme terme de lavage la disparition des chlorures. Nous avons voulu laver le précipité jusqu'à disparition de l'azote non ammoniacal dans le filtrat. Vu la lenteur extrême de la filtration par suite du colmatage du à l'état gélatineux du précipité, nous avons installé un appareil à niveau constant nous permettant un lavage régulier et continu du précipité par de l'eau contenant 5 % d'ammoniaque. Nous avons été amené plus tard à employer de l'eau ammoniacale à 1 % seulement pour diminuer la solubilité du précipité argentique. Nous dosions après élimination de l'ammoniaque l'azote non ammoniacal et recherchions l'argent sur des portions du filtrat.

Pour cela, d'une part, dans 100 c^m³ de filtrat traités par 0 gr. 50 de magnésie calcinée à l'ébullition jusqu'à disparition totale de l'ammoniaque, nous dosions l'azote par la méthode de Kjeldahl. Même après un lavage prolongé avec de l'eau ammoniacale à 5 %, le filtrat contenait toujours une petite quantité d'azote, par exemple dans un cas 0 mil. 84 d'azote pour 100. De plus, l'eau de lavage ne précipitait plus par l'acide chlorhydrique, cependant un volume important (400 c^m³ par exemple) évaporé à 10 c^m³ environ, alcalinisé par quelques gouttes d'ammoniaque et traité par une solution d'iodure de potassium, présentait alors un louche prononcé du à la formation d'iodure d'argent.

La solubilité des purates d'argent ainsi mise en évidence, il devenait impossible d'apprécier la limite d'un lavage convenable d'après la disparition de l'azote. Nous avons donc estimé que la disparition des chlorures dans les eaux de lavage du précipité argentique pouvait être considérée comme un terme suffisant, après avoir vérifié par le xanthidrol qu'à ce moment-là la disparition de l'urée, corps azoté le plus abondant dans l'urine était totale.

V. — ESSAI DE SÉPARATION DE L'ACIDE URIQUE
ET DES BASES XANTHIQUES SUR UNE URINE ARTIFICIELLE

Avant d'aborder l'urine, nous avons voulu faire un essai de séparation sur une solution obtenue en dissolvant :

Phosphate monosodique	1 gr.
Phosphate disodique	2
Chlorure de sodium	7
Xanthine	0,1013
Hypoxanthine	0,1518
Eau	q. s. pour 1000 c ^{m3} /

200 c^{m3}/ de cette solution traités par le procédé de Salkowski-Ludwig nous ont donné les résultats suivants :

	<i>en grammes par litre</i>	
	<i>théorie</i>	<i>trouvé</i>
acide urique pesé	0,6055	0,6350
azote dans les eaux mères	0,0998	0,0773

En considérant l'excès de l'acide urique pesé, il était évident que le précipité n'était pas pur. Aussi, nous avons fait sur ce dernier, un dosage par l'iode et un dosage d'azote.

	Pesé	Trouvé	
		par l'iode	par l'azote
Acide urique	0 gr. 0537	0 gr. 0478	0 gr. 0526

Cette discordance nous permettait de conclure à une impureté azotée surchargeant le précipité d'acide urique; d'autre part, cette substance devait avoir une teneur en azote voisine de celle de l'acide urique, puisque le poids d'azote trouvé correspondait sensiblement à la teneur en azote de ce corps.

Etant donné la teinte un peu jaune du précipité et le peu de solubilité de la xanthine, nous avons pensé que cette surcharge devait être attribuée à celle-ci qui aurait été entraînée en partie par les cristaux d'acide urique. En effet, la teneur

en azote de ces deux corps est assez voisine pour qu'il soit indifférent d'exprimer en xanthine ou en acide urique l'écart entre le précipité pesé et la quantité trouvée par l'iode.

Acide urique impur pesé	0 gr. 0537, contenant 0 gr. 0175	d'azote selon le dosage précédent.
Acide urique trouvé par l'iode	0 gr. 0478, corresp ^t à 0 gr. 0159	d'azote théorique
Différence.....	0 gr. 0059, corresp ^t à 0 gr. 0021	d'azote xanthique théorique
		} = 0 gr. 0180

Nous voyons que $0 \text{ gr. } 0159 + 0 \text{ gr. } 0021 = 0 \text{ gr. } 0180$ au lieu de $0 \text{ gr. } 0175$.

Le tableau suivant nous montre que l'azote théorique a été presque intégralement retrouvé, mais que sa répartition n'a pas été celle que nous avions prévue :

Azote théorique = 0 gr. 3016 par litre se répartissant de la façon suivante :

- 0 gr. 20181 pour l'acide urique
- 0 gr. 03731 pour la xanthine
- 0 gr. 06249 pour l'hypoxanthine

Azote trouvé = 0 gr. 2890 par litre se répartissant de la façon suivante :

- 0 gr. 2116 pour le précipité (supposé constitué par l'acide urique) pesé
- 0 gr. 0774 pour l'azote des eaux mères (c'est-à-dire, xanthine et hypoxanthine)

Ces remarques sur l'acide urique obtenu dans l'expérience précédente nous ont amené à vérifier la pureté de l'acide urique retiré de l'urine par la méthode de Salkowski-Ludwig.

VI. — ETUDE DE L'ACIDE URIQUE PRÉCIPITÉ DANS LA MÉTHODE DE SALKOWSKI-LUDWIG

Sur un échantillon moyen provenant du mélange des aci-

des uriques de 15 ou 20 dosages, nous avons fait des dosages par l'iode et des dosages d'azote.

Après avoir constaté par dessiccation dans le vide sulfurique que le précipité contenait 3 % d'eau, nous avons rapporté les résultats au précipité sec.

Résultats obtenus :

A) Dosage par l'iode.

<i>Acide urique pesé</i>	<i>Acide urique trouvé</i>	<i>Déficit</i>
o gr. 0296	o gr. 0288	2,4 %
o gr. 0331	o gr. 0323	2,2 %
o gr. 0984	o gr. 0968	1,4 %

B) Dosage par l'azote.

<i>Acide urique pesé</i>	<i>Azote théorique</i>	<i>Azote trouvé</i>	<i>Acide urique calculé</i>	<i>Déficit</i>
o gr. 0229	o gr. 00762	o gr. 00738	o gr. 0221	3,1 %
o gr. 0197	o gr. 00656	o gr. 00629	o gr. 0190	4,1 %

Recherche du soufre. — Nous avons recherché le soufre en détruisant environ 100 milligrammes d'acide urique par de l'acide azotique additionné de quelques gouttes d'une solution saturée d'azotate de magnésie [6]. Après avoir repris par de l'eau acidulée par de l'acide chlorhydrique, nous avons recherché l'acide sulfurique dans la solution limpide à l'aide d'une solution de chlorure de baryum et nous n'avons obtenu ainsi qu'un léger précipité de sulfate de baryum. Ce précipité nous a permis d'estimer que la proportion de soufre souillant l'acide urique était de l'ordre de 1 % environ.

Recherche des cendres. — Nous avons fait aussi la recherche des cendres. Sur 0,1326 d'acide urique pesé, nous n'avons retrouvé que 0,0008 de résidu après l'incinération, ce qui représentait 0,6 % de cendres.

On peut dire que l'acide urique extrait par la méthode de Salkowski-Ludwig est pratiquement pur, puisqu'il ne contient que des traces de soufre et une toute petite quantité de cendres. Son titre moyen est de 97,4 %. Or, E. Salkowski lui-même trouve toujours un déficit de 2 à 3 % dans ses dosages d'azote sur l'acide urique.

VII. — CONCLUSION

Cette étude nous montre que la méthode de Salkowski-Ludwig, appliquée au dosage des bases xanthiques sur une urine synthétique mène à des résultats satisfaisants (1), mais qu'elle présente un certain nombre d'inconvénients : difficulté de lavage du précipité argentique et incertitude sur son terme; l'emploi de sulfure de sodium mène à un lavage délicat du sulfure d'argent, à une forte dilution des liqueurs et à la formation fréquente de sulfure d'argent colloïdal.

Accessoirement, nous avons pu constater que l'acide urique isolé dans ce procédé était pratiquement pur.

(1) La quantité de xanthine dans l'urine est infime (3 p. 59), aussi le fait essentiel est que nous avons retrouvé *tout l'azote*.

CHAPITRE II

ÉTABLISSEMENT D'UNE MÉTHODE DE SÉPARATION DE L'ACIDE URIQUE ET DES BASES XANTHIQUES PERMETTANT UN DOSAGE DIRECT DE CES BASES.

Dans ce chapitre, nous exposons successivement :

- 1° L'isolement des bases xanthiques ;
- 2° La vérification de la pureté des corps destinés au contrôle ;
- 3° Le dosage de l'argent dans leur précipité argentique ;
- 4° Le dosage de l'azote dans ce même précipité.

§ I. — ISOLEMENT DES BASES XANTHIQUES

Comme nous venons de le voir, les principaux inconvénients de la méthode de Salkowski-Ludwig étant, d'une part sa longueur, et d'autre part l'emploi de l'hydrogène sulfuré ou du monosulfure de sodium, nous avons été amené à établir une méthode plus rapide et plus pratique répondant parfaitement à nos besoins.

Principe :

Le principe de cette méthode est le même que celui de Salkowski-Ludwig.

1° Précipitation des corps xantho-uriques de l'urine à l'état de combinaisons argentiques ;

2° Séparation de l'argent à l'aide d'un composé insoluble avec mise en liberté de l'ensemble des purines;

3° Séparation de l'acide urique par cristallisation.

Mais ces deux dernières phases qui sont distinctes dans la méthode de Salkowski-Ludwig, se trouvent confondues dans notre technique par l'emploi de l'acide chlorhydrique. L'action de cet acide sur le précipité argentique élimine à la fois l'argent et l'acide urique.

La question de la séparation de l'acide urique s'est posée alors pour nous. Cette séparation peut être considérée comme aussi parfaite que dans le procédé de Salkowski, qui introduit une correction de 0 gr. 00005 d'acide urique par cm^3 d'eau mère ou de lavage [9 p. 669]. L'avantage de notre procédé est de ne nécessiter qu'un volume très petit de liquide; la correction est donc faible et sans influence très sensible sur nos résultats.

Voici alors la technique que nous avons suivie pour la séparation et le dosage des bases xanthiques.

Technique :

Précipiter les purines de 100 cm^3 d'urine par 25 cm^3 de mixture argentique de Denigès. Recueillir le précipité formé par centrifugation dans un tube en pyrex. Le délayer soigneusement ensuite et ajouter peu à peu 20 cm^3 d'eau ammoniacale à 1 % en mélangeant bien pour le laver. Centrifuger. Rejeter le liquide surnageant le culot. Un second lavage est inutile pour le but poursuivi. Laisser égoutter le culot et le délayer en ajoutant peu à peu 2 cm^3 d'acide chlorhydrique pur. Verser ensuite dans ce mélange 5 cm^3 d'eau distillée. A ce moment-là, le phosphate ammoniaco-magnésien est dissous

tandis que les combinaisons argentiques sont détruites avec précipitation de l'argent à l'état de chloruré et libération des bases xanthiques et de l'acide urique qui, lui aussi, précipite immédiatement en grande partie.

Porter ensuite le tube à centrifuger au bain-marie. Cette opération a pour but de coaguler le chlorure d'argent qui est à l'état colloïdal, et de faire prendre l'état cristallin au précipité gélatineux d'acide urique. Avec certaines urines, cette opération est même assez longue, mais dans ce cas par addition d'un ou deux centimètres cubes de solution saturée de chlorure de sodium, on arrive à obtenir la coagulation. Lorsque la coagulation a eu lieu et que le liquide surnageant est limpide, retirer le tube du bain-marie et le laisser reposer dans un endroit frais et à l'abri de la lumière pendant un temps suffisant (Nous attendions toute une nuit).

Recueillir alors le liquide surnageant par décantation et filtration sur un tout petit filtre sans plis dans une fiole jaugée de 100 cm^3 . Laver le tube et le précipité avec quelques centimètres cubes d'une solution de chlorure de sodium à 2 ou 3 %, pour éviter de remettre du chlorure d'argent en suspension colloïdale.

Verser de la lessive de soude goutte à goutte jusqu'à la formation d'un léger précipité qu'on redissout par une ou deux gouttes d'acide chlorhydrique.

Amener alors le volume à 100 cm^3 avec de l'eau distillée et agiter.

Verser le tout dans une fiole conique contenant déjà 25 cm^3 de mixture argentique de Denigès. Rincer la fiole de 100 cm^3 avec quelques centimètres cubes de ce mélange qu'on reverse ensuite dans la fiole conique et continuer le dosage selon la technique de Denigès.

Comparaison des résultats trouvés par cette méthode et des résultats obtenus par différence entre le procédé de Denigès et celui de Ronchèse :

Résultats exprimés en grammes d'acide urique par litre

<i>Trouvé par cette méthode</i>	<i>Trouvé dans la méthode par différence</i>	<i>Ecart</i>
0,325	0,322	+ 0,93 %
0,294	0,299	— 1,6 %
0,294	0,299	— 1,6 %
0,189	0,189	0,0 %

Remarque :

Pour la neutralisation, on ne peut pas remplacer la soude par l'ammoniaque. En effet, au début, nous avons obtenu des résultats inférieurs parce que nous avons employé de l'ammoniaque pour neutraliser l'acide chlorhydrique, mais, instruits par l'étude des procédés de Ronchèse et de Telle, nous avons essayé la soude qui nous a donné immédiatement d'excellents résultats.

En possession d'un procédé nous permettant d'isoler les bases xanthiques et de les précipiter par l'argent, il nous devenait possible d'étudier le rapport de l'azote et de l'argent dans les combinaisons argentiques des purines de l'urine.

Cependant, il nous restait encore à établir une technique de dosage, d'une part de l'argent et d'autre part de l'azote dans les précipités argentiques obtenus dans des solutions pures d'acide urique, de xanthine et d'hypoxanthine. C'est ainsi que nous avons été amené d'abord à vérifier la pureté de ces corps et ensuite à appliquer la méthode de Denigès à leur dosage avant d'en utiliser les précipités argentiques pour y doser l'azote.

§ II. — VÉRIFICATION DE LA PURETÉ DES CORPS

EMPLOYÉS DE DEUX FAÇONS : PAR L'AZOTE ET PAR L'ARGENT

A) *Vérification de la pureté de l'acide urique, de la xanthine et de l'hypoxanthine employés par l'azote.*

Acide urique

L'acide urique utilisé a été purifié par dissolution dans l'acide sulfurique concentré et précipitation par l'eau (1).

Nous nous sommes assuré de son identité par la réaction de murexide et de sa pureté par des dosages d'azote. Nous l'avons contrôlé aussi par des titrages à l'iode.

Dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl [5].

Acide urique pesé	Azote théorique	Azote trouvé	Acide urique calculé d'après l'azote trouvé	Ecart
0,0331	0,01103	0,01113	0,0333	+ 0,64 %
0,0499	0,01663	0,01673	0,0501	+ 0,40 %

(1) La sensibilité du titrage de l'acide urique par l'iode est telle que le procédé de Ronchèse peut facilement être transformé en micro-méthode. C'est ainsi qu'en opérant sur 10 centimètres cubes de solution d'acide urique pur, en tenant compte de la solubilité de l'urate d'ammoniaque (0,00001 pour 1, d'après Ronchèse) et en faisant la titration à l'aide d'une solution d'iode $\frac{N}{100}$ en ajoutant, d'autre part, de l'empois d'amidon vers la fin de la réaction pour rendre le virage plus visible, nous avons obtenu les résultats suivants :

Acide urique pesé	Acide urique trouvé	Ecart %
0,00500	0,00507	+ 1,40
0,00516	0,00515	— 0,19
0,00510	0,00508	— 0,39
0,00800	0,00811	+ 1,37
0,00800	0,00805	+ 0,62
0,00401	0,00419	+ 4,48

Titrage par l'iode décimal.

<i>Acide urique pesé</i>	<i>Acide urique trouvé</i>	<i>Différence</i>
0,1812	0,1824	+ 0,66 %
0,1412	0,1419	+ 0,49 %
0,1437	0,1448	+ 0,76 %
0,1073	0,1092	+ 1,77 %
0,1046	0,1066	+ 1,91 %
0,1006	0,1001	— 0,49 %

Xanthine

Après avoir vérifié son identité par la réaction xanthique, nous avons contrôlé sa pureté par des dosages d'azote.

Dosage de l'azote :

<i>Xanthine pesée</i>	<i>Azote théorique</i>	<i>Azote trouvé</i>	<i>Xanthine calculée d'après l'azote trouvé</i>	<i>Ecart</i>
0,0217	0,00799	0,00805	0,0218	+ 0,46 %
0,0332	0,01223	0,01218	0,0330	— 0,60 %

Hypoxanthine (1)

Son identité a été vérifié par la réaction xanthique et la formation d'une combinaison argentique insoluble dans l'acide azotique froid, soluble à chaud et inaltérable à la lumière [1]. Sa pureté a été contrôlée par les dosages d'azote suivants :

Dosage de l'azote :

<i>Hypoxanthine pesée</i>	<i>Azote théorique</i>	<i>Azote trouvé</i>	<i>Hypoxanthine calculée d'après l'azote trouvé</i>	<i>Ecart</i>
0,0218	0,0089	0,0091	0,0221	+ 1,37 %
0,0190	0,0078	0,0079	0,0192	+ 1,05 %
0,0229	0,0094	0,0095	0,0231	+ 0,87 %

(1) L'hypoxanthine nous a été fournie gracieusement par les laboratoires Hoffmann-Laroche à qui nous adressons nos remerciements.

Conclusion :

L'acide urique, la xanthine et l'hypoxanthine qui vont servir à notre travail sont des corps purs.

Avant d'aborder le dosage de l'azote dans les précipités argentiques de ces bases, nous avons tenu à vérifier par nous-même si les combinaisons argentiques formées dans le procédé de dosage de Denigès étaient bien celles que l'on admet généralement.

B) *Vérification de la pureté par l'application de la méthode de Denigès au dosage de l'acide urique, de la xanthine et de l'hypoxanthine.*

Ayant appliqué strictement le procédé de Denigès à 100 c^m de la solution de ces différentes substances, nous donnerons simplement les résultats obtenus :

Acide urique

<i>Pesé</i>	<i>Trouvé en supposant un dérivé monoargentique</i>	<i>Ecart</i>
o gr. 2468	o gr. 2520	+ 2,10 %
o gr. 2134	o gr. 2152	+ 0,84 %

Ce dosage nous a permis de confirmer que l'acide urique donne bien dans ce cas un *composé monoargentique* (1).

Xanthine

Il en a été tout autrement lorsque nous avons voulu doser une solution pure de xanthine. La consommation de l'argent ne correspondait ni à un dérivé monoargentique, ni à un dérivé diargentique, mais à un composé intermédiaire.

(1) Dans la première partie, lors de nos dosages des précipités d'urate d'ammoniaque par l'iode et par l'argent, nous avions déjà considéré l'acide urique comme donnant un dérivé monoargentique et les résultats obtenus avaient été très concordants.

Voici l'exemple le plus typique qui s'est présenté :

Xanthine pesée	Xanthine calculée avec composé di-argentique	Différence	Xanthine calculée avec composé mono-argentique	Différence
0 gr. 0855	0 gr. 0570	— 33 %	0 gr. 1140	+ 33 %

Nous aurions pu attribuer ces résultats à une précipitation incomplète de la xanthine donnant un composé di-argentique, mais cette hypothèse devait être immédiatement rejetée, puisque nous retrouvions intégralement l'azote xanthique théorique dans le précipité argentique obtenu (Voir plus loin page (76)).

Il nous restait l'hypothèse de l'entraînement d'un peu d'azotate d'argent par le précipité formé, mais dans ce cas nous aurions du pouvoir éliminer tout au moins en partie l'azotate d'argent en excès par un lavage soigné au creuset de Gooch avec de l'eau ammoniacale à 1 %. Or, un dosage d'argent direct dans le précipité (d'après la technique exposée un peu plus loin page (79)), nous montrait que le lavage n'avait aucune influence.

Nous étions ainsi amené à admettre que le précipité obtenu par la mixture argentique de Denigès ne correspondait pas à la composition du sel diargentique décrit par divers auteurs (1), mais semblait avoir une composition de formule : trois molécules de xanthine pour quatre molécules d'argent.

Nous avons confirmé l'hypothèse précédente par des expériences très serrées, dans lesquelles nous déterminions rigoureusement les corrections à faire par des essais à blanc. Nous nous sommes servi, dans ces déterminations, d'une burette graduée en vingtièmes de centimètre cube et d'une solution d'azotate d'argent $\frac{N}{190}$ pour apprécier l'argent disparu.

(1) Wurtz, tome III, page 726, année 1874.

Voici les résultats trouvés :

<i>Xanthine pesée</i>	<i>Résultats trouvés pour</i>		
	$4 \text{ Ag} + 2 \text{ X}$	$4 \text{ Ag} + 3 \text{ X}$	$4 \text{ Ag} + 4 \text{ X}$
0,0864	0,0579	0,0869	0,1159
0,0855	0,0570	0,0855	0,1140

Conclusion :

Des expériences précédentes il ressort que la combinaison argentique de la xanthine, formée lors du dosage de celle-ci par la méthode de Denigès, n'est ni monoargentique, ni diargentique, mais bien composée de quatre atomes d'argent pour trois molécules de xanthine.

Hypoxanthine

Nous avons appliqué aussi sur des solutions pures d'hypoxanthine la méthode de Denigès et voici les résultats trouvés, en supposant un composé diargentique :

<i>Pesé</i>	<i>Trouvé</i>	<i>Ecart</i>
0,1882	0,1910	+ 1,48 %
0,1882	0,1961	+ 4,19 %
0,2510	0,2510	0,0 %

Par conséquent, l'hypoxanthine donne bien un composé diargentique lors de son dosage par la méthode de Denigès.

§ III. — ETABLISSEMENT D'UN PROCÉDÉ DE DOSAGE DIRECT DE L'ARGENT DANS LES PRÉCIPITÉS ARGENTIQUES DES BASES XANTHIQUES.

Après avoir isolé et lavé le précipité argentique, nous avons essayé d'abord de le dissoudre dans un excès de cya-

nure de potassium et de titrer ensuite l'excès de ce dernier à l'aide d'une solution d'azotate d'argent en présence d'iode de potassium. Mais ce procédé n'ayant pas donné de résultats satisfaisants, nous avons alors établi et adopté la technique suivante que nous avons appliqué d'abord à une solution d'hypoxanthine (à 0 gr. 152 par litre) contenant aussi 1 gramme de biphosphate de soude et 2 grammes de phosphate disodique; ceci dans le but de produire un précipité de phosphate ammoniaco-magnésien et de nous rapprocher le plus possible des conditions de l'urine. Nous avons ensuite appliqué le procédé à l'urine.

Technique :

1° Obtention du précipité de purates d'argent

A 6,25 c^{m3}/ (1) de mixture argentique contenu dans un tube à centrifuger en pyrex, nous avons ajouté 25 c^{m3}/ de la solution d'hypoxanthine.

Après avoir recueilli le précipité par centrifugation et rejeté le liquide surnageant, nous avons lavé le culot à quatre reprises avec chaque fois cinq centimètres cubes d'eau ammoniacale à 1 %, en ayant soin de vérifier par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique dans les dernières eaux de lavage, que celles-ci ne contenaient plus d'argent.

2° Destruction sulfo-nitrique du précipité

Au culot bien égoutté, nous avons ajouté 1 c^{m3}/ d'acide sulfurique pur et 1 c^{m3}/ d'acide azotique pur. Nous avons chauffé ensuite jusqu'à complète destruction, en faisant tom-

(1) Ce chiffre correspond exactement aux proportions du procédé de Denigès.

ber de temps en temps avec précaution quelques gouttes d'acide azotique. La destruction, très rapide, ne demande que quelques minutes.

3° Séparation des phosphates (1)

Au liquide restant, nous avons ajouté peu à peu 20 c^{m3}/ environ d'eau distillée, puis de l'ammoniaque pure, goutte à goutte, jusqu'à la formation d'un précipité cristallin de phosphate ammoniaco-magnésien. Après avoir laissé reposer le tout pendant quelque temps, nous avons séparé le liquide par filtration sur un petit filtre sans plis et nous avons lavé le tube et le précipité avec 30 c^{m3}/ d'eau ammoniacale à 1 %.

4° Titrage par l'argent

Au filtrat et aux eaux de lavage reçus dans une fiole conique, nous avons ajouté 20 c^{m3}/ de solution $\frac{N}{200}$ de cyanure de potassium ainsi que 5 gouttes de solution d'iodure de potassium à 10 % et nous avons titré par une solution $\frac{N}{200}$ d'azotate d'argent jusqu'à début d'opalescence, en lumière latérale. Le virage dans ces conditions est très net et se fait à une ou deux gouttes.

Nous avons eu soin préalablement de déterminer exactement la correction à faire par un essai à blanc.

Nous avons comparé les résultats obtenus à ceux que donnait le dosage par la méthode de Denigès sur 100 c^{m3}/ de solution.

(1) Nous avons essayé dans la technique appliquée à l'urine d'éliminer les phosphates dès le début, avant la première précipitation argentique. Mais nous nous sommes aperçu que leur présence était nécessaire pour permettre un lavage facile du précipité argentique ultérieurement formé.

Résultats :

Nature du Corps	Cm ³ de No ³ Ag $\frac{N}{200}$	
Solution d'hypoxanthine	Trouvés par la méthode	calculés d'après les résultats donnés par la méthode ordinaire de Denigès
Urine	5,25	5,18
	5,25	5,25

§ IV. — ETABLISSEMENT D'UN PROCÉDÉ DE DOSAGE DIRECT DE L'AZOTE DANS LES PRÉCIPITÉS ARGENTIQUES DES BASES XANTHIQUES.

Lorsqu'il nous a été possible de doser l'argent directement dans le précipité argentique des bases xanthiques, nous avons dû établir ensuite une technique de dosage de l'azote dans ce même précipité argentique. C'est ainsi que nous avons été amenés à doser l'azote dans les précipités argentiques de l'acide urique, de la xanthine et de l'hypoxanthine. Pour chasser l'ammoniaque et détruire les sels ammoniacaux qui pouvaient rester dans les précipités argentiques, nous avons appliqué le procédé suivi par Mlle Le Breton et G. Schœffer (8 p. 60) en faisant bouillir ces précipités en présence de magnésie. Après avoir constaté que, dans ces conditions, les précipités argentiques étaient décomposés avec formation d'oxyde d'argent et, par conséquent, que les bases devaient être libérées, nous avons vérifié qu'il ne se produisait pas de perte, autrement dit que sur une solution d'acide urique après ce traitement, on retrouvait bien tout l'azote purique.

C'est ainsi que nous avons fait bouillir un certain volume de solution d'acide urique, préalablement acidifiée par quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 % pour en neutraliser la soude avec 0 gr. 50 de magnésie en suivant l'opération dans un appareil distillatoire servant au dosage de l'ammoniaque par la méthode de Kjeldahl. Nous n'avons alors constaté aucun départ d'ammoniaque.

Ensuite, après réduction à faible volume et destruction du résidu, nous en avons dosé l'azote par la méthode de Kjeldahl.

Voici les résultats trouvés :

Acide urique pesé	Azote théorique	Azote trouvé	Ecart
0 gr. 02532	0 gr. 00843	0 gr. 00857	+ 1,66 %

Comme on l'avait déjà montré, la magnésie pouvait donc être utilisée sans inconvénient pour débarrasser les précipités argentiques de toute trace d'ammoniaque.

Téchnique employée :

Nous versions 25 cm^3 de la solution mesurés à la pipette dans un tube à centrifuger contenant déjà 6,25 cm^3 de mixture argentique de Denigès. Après centrifugation, le culot était lavé une fois avec 20 cm^3 d'eau ammoniacale à 1 % et recueilli de nouveau par centrifugation. Puis, il était délayé dans un peu d'eau et versé dans un matras en pyrex de 200 cm^3 . Le tube à centrifuger était rincé soigneusement à plusieurs reprises et les eaux de lavage étaient réunies au contenu du matras. Après avoir chassé l'ammoniaque par ébullition en présence de 0,50 de magnésie (1) et concentra-

(1) Cette opération est assez longue ; ajouter à nouveau de l'eau si cela est nécessaire et bien s'assurer qu'il ne se dégage plus aucune trace d'ammoniaque avant de continuer le dosage.

tion à très faible volume, nous ajoutons 2 gr. 5 de sulfate de potasse et 10 c^{m3}/ du mélange des acides sulfurique et phosphorique. Nous chauffons ensuite jusqu'à destruction complète et nous dosions l'ammoniaque à l'aide d'une solution d'acide sulfurique $\frac{N}{20}$ en présence d'alizarine sulfo-conjuguée comme réactif indicateur. Nous avons eu soin, au préalable, de faire un dosage à blanc pour déterminer la correction à faire.

Résultats trouvés :

1° Avec l'acide urique :

<i>Pesé</i>	<i>Azote théorique</i>	<i>Azote trouvé</i>	<i>Ecart</i>
0 gr. 02535	0 gr. 00844	0 gr. 00854	+ 1,18 %
0 gr. 02675	0 gr. 00890	0 gr. 00896	+ 0,67 %

2° Avec la xanthine :

A cause de la faible solubilité de cette base, nous avons opéré la précipitation de 100 c^{m3}/ de solution par 25 c^{m3}/ de mixture argentine :

<i>Pesé</i>	<i>Azote théorique</i>	<i>Azote trouvé</i>	<i>Ecart</i>
0 gr. 00856	0 gr. 00315	0 gr. 00322	+ 2,22 %
	0 gr. 00315	0 gr. 00294	— 6,66 %

3° Avec l'hypoxanthine :

<i>Pesé</i>	<i>Azote théorique</i>	<i>Azote trouvé</i>	<i>Ecart</i>
0 gr. 01882	0 gr. 00774	0 gr. 00770	— 0,51 %
0 gr. 01902	0 gr. 00783	0 gr. 00777	— 0,76 %

CHAPITRE III

TECHNIQUE DU DOSAGE DES BASES XANTHIQUES DE L'URINE ET DE LA DETERMINATION DU RAPPORT

Ayant en mains tous les matériaux nécessaires pour mener à bien le travail que nous nous étions proposé, il nous restait encore à les grouper dans une technique que nous puissions appliquer ensuite à l'urine. Voici donc l'exposé final du procédé que nous avons appliqué à l'étude des bases xanthiques de l'urine et qui nous a permis de tirer quelques conclusions de cette étude.

Pour des raisons de commodité dues à la capacité des tubes à centrifuger dont nous disposions, nous avons opéré sur un volume de 60 c^{m3}/ d'urine et voici la technique à laquelle nous nous sommes arrêtés :

1° *Séparation de l'acide urique et des bases xanthiques :*

Verser 30 c^{m3}/ d'urine dans un tube à centrifuger d'une capacité de 50 c^{m3}/ environ et contenant déjà 7,5 c^{m3}/ de mixture argentique. Centrifuger, rejeter le liquide surnageant le culot et recommencer cette opération dans le même tube de façon à recueillir un précipité correspondant à 60 c^{m3}/ d'urine. Laver une fois ce précipité avec 20 c^{m3}/ environ d'eau ammo-

niacale à 1 %. Laisser égoutter, puis délayer soigneusement le culot en ajoutant 1 cm^3 d'acide chlorhydrique pur et 4 cm^3 d'eau distillée.

Porter ensuite le tube au bain-marie bouillant jusqu'à coagulation du précipité de chlorure d'argent et d'acide urique. Si cette opération traîne en longueur, ajouter 1 à 2 cm^3 de solution saturée de chlorure de sodium. Lorsque le liquide surnageant le précipité est devenu limpide, retirer le tube et le laisser en repos dans un endroit frais à l'abri de la lumière pendant une nuit entière. Séparer le liquide surnageant le précipité par décantation et filtration sur un petit filtre sans plis. Rincer le tube et le filtre avec quelques centimètres cubes de solution de chlorure de sodium à 3 ou 4 % (pour éviter de remettre en suspension colloïdale du chlorure d'argent). Au filtrat reçu dans une fiole jaugée de 50 cm^3 , ajouter de la lessive de soude goutte à goutte en agitant soigneusement jusqu'à la formation d'un précipité, puis redissoudre celui-ci par addition d'une ou deux gouttes d'acide chlorhydrique. Amener alors le volume à 50 cm^3 avec de l'eau distillée.

2° *Obtention du précipité argentique :*

Dans deux tubes à centrifuger en pyrex contenant déjà 5 cm^3 de mixture argentique, verser 20 cm^3 de la solution précédemment obtenue. Mélanger soigneusement et laisser reposer quelques instants. Recueillir chaque précipité formé sur un creuset de Gooch garni d'un petit filtre en papier. Les laver à trois reprises avec 5 cm^3 d'eau ammoniacale à 1 % ayant servi préalablement à rincer les tubes à centrifuger, puis deux fois encore avec 5 cm^3 d'eau ammoniacale, en lavant bien les parois des creusets. A ce moment-là s'assurer, par l'acide chlorhydrique, qu'il n'y a plus d'argent dans les derniers

5 c^{m3}/ d'eau de lavage. Sur l'un des précipités faire un dosage d'argent et sur l'autre un dosage d'azote selon les indications

3° Dosage de l'argent :

Introduire le petit filtre retenant le précipité dans le tube même où s'est faite la précipitation. Laver soigneusement le creuset avec 1 c^{m3}/ d'acide azotique qu'on verse ensuite dans le tube. Ajouter 2 c^{m3}/ d'acide sulfurique pur et chauffer le tout jusqu'à noircissement de la masse. Poursuivre alors le chauffage en ajoutant de temps en temps et avec précaution pour éviter les projections, quelques gouttes d'acide azotique jusqu'à l'obtention d'un liquide incolore. Laisser refroidir. Ajouter 20 c^{m3}/ d'eau, puis de l'ammoniaque pure (environ 7 c^{m3}/) jusqu'à la formation d'un précipité de phosphate ammoniaco-magnésien (1). Filtrer sur un petit filtre sans plis, laver ce dernier ainsi que le tube avec 30 c^{m3}/ d'eau ammoniacale à 1 %. Ajouter 10 c^{m3}/ de solution $\frac{N}{200}$ de cyanure de potassium et 5 gouttes d'une solution d'iodure de potassium à 10 %. Titrer avec une solution d'azotate d'argent $\frac{N}{200}$

Faire le calcul, en sachant que 1 c^{m3}/ de solution $\frac{N}{200}$ d'azotate d'argent correspond à 0 gr. 00054 d'argent.

4° Dosage de l'azote :

Détacher le second précipité et, en disposant le filtre sur la paroi d'un petit entonnoir, faire passer à l'aide d'un jet de pissette, tout le précipité à l'exclusion du filtre (celui-ci serait trop long à détruire) dans un matras de 100 c^{m3}/ en pyrex. Entraîner de même toutes les parcelles pouvant adhérer aux parois du creuset. Ajouter alors 0,20 de magnésie et

(1) Voir note de la page 73.

porter à l'ébullition jusqu'à ce que toute trace d'ammoniaque soit chassée. On est sûr d'atteindre ce résultat en évaporant deux fois le contenu du matras à très faible volume. A ce moment là, faire tomber dans le matras 1 gr. 25 de sulfate de potasse et 5 c^{m3}/ du mélange d'acide sulfurique et d'acide phosphorique (5). Chauffer jusqu'à obtention d'un liquide incolore et même un peu plus longtemps. Après refroidissement faire passer le contenu du matras en ayant soin de rincer celui-ci à plusieurs reprises avec un peu d'eau bouillante, dans le ballon d'un appareil distillatoire pour micro-Kjeldahl. Ajouter 25 c^{m3}/ de lessive de soude et distiller. Recevoir le distillat dans un vase contenant un peu d'eau additionnée de 11 gouttes de solution d'alizarine sulfoconjuguée à 10 % et neutraliser exactement celui-ci par de l'acide sulfurique $\frac{N}{50}$ au fur et à mesure de son écoulement. Faire les calculs en sachant que 1 c^{m3}/ d'acide sulfurique $\frac{N}{50}$ correspond à 0 gr. 00028 d'azote.

On obtient ainsi le chiffre d'azote directement comparable au chiffre d'argent trouvé dans l'opération antérieure.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

§ I. — RÉSULTATS.

Nous avons appliqué la méthode décrite au chapitre précédent sur un certain nombre d'urines.

Nous donnons à titre d'exemple le détail d'un de ces dosages :

1° Dosage de l'argent :

$\text{Ag } \frac{\text{N}}{200}$	consommé (1 cc. = 0,00054 d'argent)	Argent fixé
5 cc. 95		0 gr. 003213
5 cc. 65		0 gr. 003051

2° Dosage de l'azote :

$\text{SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{50}$	consommé (1 cc. = 0,00028 d'azote)	Azote correspondant
3 cc. 80		0 gr. 001064
3 cc. 65		0 gr. 001022

Ces résultats par suite des dilutions correspondant à 24 c^{m3}/ d'urine. Pour les ramener au litre, il suffit de multiplier l'azote ou l'argent par $\frac{1000}{24}$.

Remarque : Ce dernier calcul n'est pas nécessaire si c'est le rapport $\frac{\text{Ag}}{\text{Az}}$ que l'on veut déterminer.

Résultats bruts :

Résultats bruts exprimés en milligrammes et correspondant à 24 c^{m3}/ d'urine.

N ^o de l'Expérience	Argent exprimé en		Azote exprimé en	
	cm ³ de solution N 200	mgr	cm ³ de solution N 50	mgr
I }	9,30	5,022	8,15	2 320
	8,90	4,806	8,15	2,820
II }	6,90	3,726	5,85	1,638
	5,40	2,916	4,00	1,120
III }	5,05	2,727	2,85	0,798
	4,70	2,538	2,75	0,770
IV }	6,55	3,537	4,55	1,274
	6,40	3,456	4,55	1,274
V }	1,90	1,026	1,10	0,308
	1,95	1,053	1,10	0,308
VI }	5,95	3,213	3,80	1,064
	5,65	3,051	3,65	1,022
VII }	4,60	2,484	2,97	0,833
	4,30	2,322	2,70	0,756
VIII }	3,25	1,755	1,75	0,490
	2,85	1,539	1,65	0,462

§ II. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1^o *Les variations du rapport de l'argent à l'azote ou « indice d'argent » des bases xanthiques.*

Dans les conditions où nous opérons, tous les corps précipités par l'argent peuvent être considérés comme des dérivés de la purine, et comme celle-ci contient quatre atomes d'azote dans sa molécule, ce que nous appellerons le rapport $\frac{Ag}{Az}$ sera le rapport des atomes d'argent à quatre atomes d'a-

zote, c'est-à-dire plus simplement des atomes d'argent à une molécule de base xanthique.

Les résultats ainsi transformés selon la formule

1 atome argent ou $\frac{Ag}{4Az}$ deviennent les suivants.
1 molécule de purine 4 Az

URINE N°	ORIGINE	Indice d'Argent	MOYENNE
I	Régime très riche en purines	0,94 0,88	0,91
II	Régime riche en purines	1,17 1,30	1,23
III	Même sujet que N° II, mais suivant un régime sans purines (1)	1,77 1,70	1,73
IV	Régime normal	1,48 1,45	1,46
V	Urine très diluée (boissons abondantes)	1,71 1,77	1,74
VI	Régime normal	1,57 1,55	1,56
VII	Enfant de trois ans	1,54 1,58	1,56
VIII	Enfant de seize mois	1,85 1,72	1,79

(1) On peut remarquer que, chez le même sujet, le régime alimentaire fait varier le rapport $\frac{Ag}{Az}$. En effet, si ce dernier passe d'un régime alimentaire riche en purines à un régime presque exempt de ces bases, on constate une diminution à la fois de l'argent fixé et de l'azote xanthique; mais ces variations *ne sont pas parallèles*. C'est ainsi que dans notre observation la diminution de l'azote est beaucoup plus rapide que celle de l'argent ainsi qu'on peut le voir en comparant les résultats des urines N° II et N° III. Si l'on prend la moyenne des résultats trouvés l'argent fixé passe de 3,321 à 2,632, soit une diminution de 20,7 % tandis que l'azote passant de 1,379 à 0,784 diminue de 42,4 %. La différence est donc du simple au double.

Cette méthode nous permet donc de saisir des *variations qualitatives* de la composition du précipité.

Le tableau précédent nous permet de constater que l'« indice d'argent » *n'est pas constant* et que d'autre part la quantité d'argent fixée pour une même quantité de base (ou quatre atomes d'azote) varie sensiblement du simple au double (de 0,91 à 1,79). Autrement dit, ces précipités se conduisent comme un mélange en *proportions variables* de composés *mono* et *diargentiques*.

2° Conséquences relatives au calcul des bases xanthiques.

Les variations de l'argent et de l'azote n'étant pas parallèles, il était évident qu'en calculant les bases xanthiques à partir de l'un ou de l'autre de ces deux éléments, on arriverait à des résultats très différents.

Voici quelques-uns des résultats obtenus en calculant les bases :

1. — D'après l'argent, en supposant un dérivé monoargentique de l'acide urique (1).

Un atome d'argent (108) correspondant à une molécule d'acide urique (168) 1 gr. d'argent correspond à 1 gr. 55 d'acide urique.

2. — D'après l'azote en transformant celui-ci en acide urique (1).

Un molécule d'acide urique (168) contenant exactement

(1) Nous n'ignorons pas que ces bases ne sont pas constituées par de l'acide urique ; toutefois, nous avons préféré exprimer nos résultats en acide urique plutôt qu'en xanthine comme on le fait d'ordinaire, car :

1° La xanthine ne constitue qu'une quantité infime des bases et, comme nous l'avons montré, donne un précipité qui n'est ni mono, ni diargentique (cf. page 71).

2° L'expression en acide urique nous facilite d'autres comparaisons (cf. page 71).

un tiers de son poids d'azote (56), 1 gr. d'azote correspond à 3 gr. d'acide urique.

Urine N°	Poids exprimés en milligrammes d'acide urique par litre	
	par l'argent	par l'azote
I	324,3	352,5
II	240,2	204,7
III	176,1	99,7
IV	66,2	38,4
V	228,4	159,2
VI	207,4	132,9
VII	160,4	104,1
VIII	113,3	61,2

Les différences entre l'argent et l'azote mènent évidemment à des variations du simple au double, mais l'azote est un *constituant* des bases xanthiques, tandis que l'argent est un *élément fixé et variable* selon la nature de ces bases. C'est pourquoi nous croyons traduire plus fidèlement la réalité en donnant la préférence au résultat donné par l'azote.

3° *Ces variations des bases ont-elles un rapport avec celles de l'acide urique ?*

On peut calculer d'abord l'importance relative de l'azote des bases xanthiques dans le bloc xantho-urique.

Le calcul a été fait en rapportant le chiffre des bases xanthiques X par litre (exprimé en acide urique) à la somme de l'acide urique U et des bases X. C'est le rapport $\frac{X}{U+X}$

Exemple : La quantité d'acide urique par litre étant 0,404, et la quantité calculée des bases xanthiques par litre étant 0,061, le rapport sera $\frac{0,061}{0,404 + 0,061} = 13,1 \%$.

Urine	Acide urique par litre	Bases calculées d'après l'argent	Valeur du rapport	Bases calculées d'après l'azote	Valeur du rapport
A	0 gr. 892	0,176	16,4 %	0,099	10,0 %
B	0 gr. 757	0,228	23,1 %	0,159	17,3 %
C	0 gr. 119	0,066	35,6 %	0,038	24,2 %
D	0 gr. 782	0,207	20,9 %	0,132	15,5 %
E	0 gr. 388	0,160	29,1 %	0,104	21,1 %
F	0 gr. 404	0,113	21,8 %	0,061	13,1 %

Résultats :

Ce rapport, que les auteurs admettent généralement voisin de 20 %, oscille d'après nos chiffres de 10 % à 24 %, si nous considérons les résultats par l'azote, et de 16 % à 35 % si nous utilisons les résultats donnés par l'argent.

4° *Evaluation de la grandeur moléculaire moyenne possible des bases xanthiques.*

Les résultats précédents ne nous permettaient pas d'avoir une idée de la grandeur moléculaire de ces bases xanthiques. Il faudrait, pour l'évaluer approximativement, connaître le *pourcentage* d'azote de la molécule. Aussi, voici comment nous avons procédé pour atteindre ce but et isoler d'abord les combinaisons argentiques des bases xanthiques. Dans

ce cas particulier, nous avons éliminé les phosphates avant la deuxième précipitation argentique.

Technique :

Dans quatre tubes à centrifuger, nous avons précipité 50 c^{m3}/ d'urine par 12,5 c^{m3}/ de mixture argentique en suivant la technique indiquée plus haut pour séparer l'acide urique des bases xanthiques. Après avoir obtenu ainsi une solution de bases xanthiques correspondant à 200 c^{m3}/ d'urine, nous avons amené son volume à 100 c^{m3}/ et versé le tout dans une fiole conique. Dans cette solution portée au B. M., nous avons fait tomber goutte à goutte 6,25 c^{m3}/ de mixture magnésienne de Denigès pour éliminer les phosphates. Après filtration et lavage à l'aide d'un peu d'eau ammoniacale à 1 %, nous avons précipité les bases xanthiques par addition de quelques centimètres cubes d'azotate d'argent. Nous avons recueilli, par centrifugation, le précipité gélatineux de purates d'argent ainsi obtenu, mais lorsque nous avons voulu le laver avec de l'eau ammoniacale, nous nous sommes aperçu qu'après deux lavages, le précipité commençait à se mettre en suspension colloïdale. Ne pouvant alors songer à le laver à fond, nous avons eu recours à l'artifice qui consistait à déterminer la quantité des eaux mères retenues par le précipité et la composition de ces eaux mères en vue des corrections nécessaires.

Pour cela, après avoir recueilli ce précipité par centrifugation dans un tube taré, nous le lavions deux fois avec 40 c^{m3}/ d'eau ammoniacale et nous conservions les dernières eaux de lavage.

D'une part, après avoir laissé bien s'égoutter le précipité, nous pesions le tube contenant le précipité humide, puis après dessiccation de celui-ci dans le vide sulfurique, nous le pesions

de nouveau sec. Nous obtenions ainsi le poids de l'eau retenue par le précipité.

D'autre part, nous utilisions de la façon suivante, les eaux de lavage mises de côté :

1° 10 c^{m3}/ étaient évaporés dans un cristalliseur taré et nous pesions le résidu ;

2° Sur les 10 autres c^{m3}/, nous faisons un dosage de l'argent restant en solution ;

3° Dans les 10 derniers centimètres cubes, nous déterminons l'azote non-ammoniacal.

Ayant ces données en main, il nous était facile ensuite d'établir les corrections à faire, qui, d'ailleurs, étaient tellement faibles qu'elles n'influaient que sur la deuxième décimale du rapport.

Finalement, dans le précipité argentique des bases xanthiques finement pulvérisé, nous dosions l'argent et l'azote.

Résultats. — Voici les résultats trouvés :

Urine N°	Argent %	Azote %	Rapport $\frac{Ag}{4Az}$
I	33,6	15,1	1,15
II	35,6	15,1	1,22
III	38,0	15,0	1,30

D'autre part, en défalquant l'argent pour avoir le poids des bases libres, nous pouvions comparer le pourcentage de l'azote des bases xanthiques précédemment isolées de l'urine à celui de quelques dérivés de la purine.

Cette comparaison a été faite dans le tableau ci-dessous :

Urine N°	Acide urique	Xanthine	Hypoxanthine et Théophylline	Théobrominé	Caféine
I 22,7%	33,5%	36,8%	41,1%	31,1%	28,8 %
II 23,4%					
III 24,2%					

On voit que, *si ce précipité n'est composé que des sels d'argent des bases xanthiques*, les bases puriques de l'urine sont des corps moins azotés que l'acide urique, la xanthine et l'hypoxanthine, et que ces corps doivent être fortement méthylés (1). Ceci pourrait s'expliquer, tout au moins en partie, par la présence de purines exogènes provenant de l'ingestion d'aliments riches en dérivés méthylés de la purine, tels que la caféine, la théobromine, la théophylline, etc...

Ces résultats nous permettent donc d'apporter une nouvelle précision sur la constitution même du bloc des bases xanthiques.

(1) Les bases puriques isolées par Krüger et Salomon étaient composées de 60 % de dérivés méthylés (D'après Yvon et Michel (19 p. 137)).

Résumé et Conclusions Générales

Poursuivant le but que nous avons défini au début de ce travail, nous avons été amenés d'abord à faire une étude critique d'un certain nombre de méthodes de dosage de l'acide urique, et par la suite à instituer une méthode de dosage des bases xanthiques.

PREMIÈRE PARTIE

Cette étude critique, qui avait pour but principal, une séparation précise de l'acide urique et des bases xanthiques, a porté sur trois sortes de méthodes : les méthodes employant les sels de zinc, d'ammonium et de cuivre.

Voici nos principaux résultats :

I. — Dans les méthodes au zinc, le procédé de Bellocq-Sauzéat précipite en entier l'acide urique, mais à condition de créer une alcalinité bien supérieure à celle qu'indique l'auteur. Par contre, les bases xanthiques sont totalement précipitées en même temps que l'acide urique.

Le procédé de Thiéry ne nous a pas donné la séparation complète qu'indique l'auteur, même en opérant sur des solutions pures des bases elles-mêmes.

II. — Le procédé à l'urate d'ammoniaque de Ronchèse et de Telle donne bien une séparation réelle de ces deux groupes. Malheureusement, les conditions du milieu s'opposent à la précipitation des bases xanthiques par l'argent.

III. — Le procédé au cuivre de Ducung ne nous a pas paru applicable pour une raison analogue.

DEUXIÈME PARTIE

I. — Nous avons alors institué une méthode inspirée de celle de Salkowski, mais en différant par les points suivants :

La séparation de l'argent et de l'acide urique, au lieu de se faire en deux phases, s'effectue simultanément par l'action directe de l'acide chlorhydrique sur le précipité argentique qui insolubilise à la fois l'argent et l'acide urique.

Dans le filtrat, la mixture argentique nous permet d'isoler quantitativement les bases xanthiques sous forme de sels argentiques.

Nous avons établi une technique permettant, en partant d'un volume restreint d'urine (60 c^{m3}), de doser à la fois l'argent et l'azote dans le précipité argentique.

II. — L'application de cette méthode nous a permis, par l'étude du rapport $\frac{Ag}{Az}$ d'établir que le bloc xanthique avait une composition *variable* avec le régime, puisque, d'après nos résultats, ces bases fixaient des quantités d'argent correspondant à un mélange *variable* de sels mono et diargentiques, et de plus que leur teneur en azote était sensiblement plus faible que la teneur des bases puriques telles que la xanthine et l'hypoxanthine.

Cette variabilité du rapport montre qu'il n'est pas indifférent d'utiliser les méthodes de dosage par l'argent ou par l'azote dans la détermination de ces bases, le résultat pouvant varier du simple au double selon que l'on s'adresse à l'un ou à l'autre de ces deux éléments.

La technique nouvelle de dosage direct des bases xanthiques que nous avons établie, en nous permettant l'étude du rapport $\frac{Ag}{Az}$ a rendu possible la mise en évidence des variations qualitatives de ces bases dont l'étude reste à faire (1).

Vu : *le Doyen de la Faculté,*

M. RADAIS.

Vu : *le Président de la Thèse,*

L. GRIMBERT.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

P. LAPIE.

(1) Accessoirement notre travail nous a permis d'une part de montrer la fidélité du procédé de Ronchèse à l'urate d'ammoniaque et d'autre part, de rectifier la composition du dérivé argentique de la xanthine.

Bibliographie

1. E. BARRAL. — Précis d'Analyse Chimique Biologique générale, 2^e édition, p. 268.
2. CAMUS et GOURNAY. — Comptes rendus de la Société Biologique, 91 (1924) p. 1137.
3. E. DEROIDE. — Thèse de Médecine, Lille 1891, p. 39.
4. S. DOMBROWSKI et J. BROWINSKI. — *Journal Pharmacie et Chimie*, t. 27 (1923) p. 139.
5. FLEURY et LEVALTIER. — Recherches sur le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl et ses modifications. *Journal Pharmacie et Chimie* t. 39 (1924) p. 137.
6. FONTÈS et THIVOLLE. — *Bull. Soc. Ch. Biol.* 1923, p. 783
7. Ch. KAYSER et ELIANE LE BRETON. — Mécanisme régulateur du métabolisme des purines et diabète insipide. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, n^o 23, 8 juin 1925, t. 180.
8. ELIANE LE BRETON et G. SCHAEFFER. — Variations biochimiques du rapport nucléoplasmique au cours du développement embryonnaire, p. 48.
9. A. MOREL. — *Précis de Technique Chimique* 1909, p. 669
10. RANGIER. — *Bull. Soc. Ch. Biol.* t. VI, décembre 1924 p. 951.
11. A. RONCHÈSE. — Thèse de Pharmacie, Paris 1908, p. 66.
12. A. RONCHÈSE. — *Guide pratique pour l'Analyse des Urines*, 1912, p. 79.
13. E. SALKOWSKI. — *Z. f. Physiol. Ch.* 119 (1922), 121-124.
14. E. SALKOWSKI. — *Physiol. Ch.* 85-346.
15. SAUZÉAT. — Thèse de Pharmacie, Lyon 1911.
16. H. STENDEL et SUNG-SHENG CHOU. — *Z. Physiol. Ch.* 116 (1921) 123-5.
17. F. TELLE. — *Bull. Sciences Pharmacologiques* 1918-25.
18. THIÉRY. — *Journal Pharmacie et Chimie*, 7^e série, t. XXIII p. 494, juin 1921.
19. P. YVON et Ch. MICHEL. — *Manuel d'analyse des urines et de Séméiologie urinaire*, 8^e édition (1920).

Table des Matières

INTRODUCTION

Les méthodes de dosage des bases xanthiques dans l'urine	7
--	---

PREMIÈRE PARTIE

Etude critique de quelques procédés de séparation de l'acide urique	15
---	----

CHAPITRE I. — Etude critique du procédé de Bellocq-Sauzéat	17
--	----

CHAPITRE II. — Etude critique du procédé de Thiéry	27
--	----

CHAPITRE III. — Etude des procédés utilisant l'ammoniaque et ses sels	35
---	----

CHAPITRE IV. — Revue des procédés utilisant les sels de cuivre	45
--	----

DEUXIÈME PARTIE

Dosage des bases xanthiques, détermination et étude du rapport $\frac{Ag}{Az}$ sur le précipité argentique de ces bases	51
---	----

CHAPITRE I. — Etude critique de la méthode de Salkowski-Ludwig	53
--	----

CHAPITRE II. — Etablissement d'une méthode de séparation de l'acide urique et des bases xanthiques permettant un dosage direct de ces bases	63
--	----

CHAPITRE III. — Technique du dosage des bases xanthiques de l'urine et de la détermination du rapport	77
---	----

CHAPITRE IV. — Résultats et interprétations	81
--	----

Résumé et Conclusions générales	91
---------------------------------------	----

Bibliographie	95
---------------------	----

